

SUPPRESSION DE LA REPOSE ALLERGIQUE PAR UN COMPOSE TOLEROGENE DE LONGUE DUREE D'ACTION

THESE

présentée à la faculté de médecine de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur en médecine

par

Lucien GAMBA

de

GENEVE

Thèse No 3740

GENEVE

Editions Médecine et Hygiène

1979

UNIVERSITE DE GENEVE
Département de médecine
Division d'immunologie
et d'allergologie

FACULTE DE MEDECINE

Professeur A. CRUCHAUD

SUPPRESSION DE LA REPONSE ALLERGIQUE PAR UN COMPOSE TOLEROGENE DE LONGUE DUREE D'ACTION

THESE

présentée à la faculté de médecine de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur en médecine

par

Lucien GAMBA

de

GENEVE

Thèse No 3740

GENEVE

Editions Médecine et Hygiène

1979

La Faculté de médecine, sur le préavis du professeur André Cruchaud, autorise l'impression de la présente thèse, sans prétendre par là émettre d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 30 avril 1979

Le doyen :
André Cruchaud

Thèse No 3740



Ce travail a été effectué dans le cadre de la Division d'Immunologie et d'Allergie. Je tiens ici à remercier le Professeur A. Cruchaud pour son accueil et pour tout l'enseignement qu'il a dispensé au cours de cette année. Le sujet de ce travail m'a été proposé par le Docteur J.-P. Girard, chargé de cours, responsable de l'unité d'Allergologie. Tout au long de ce travail, de nombreuses discussions ont permis d'orienter l'expérimentation et de tirer le meilleur parti des résultats. Je le remercie ici de sa disponibilité.

Une partie des analyses a pu être menée à bien grâce à l'aide et aux conseils de Mme Stéphanie Fleury, de Mme Martine Mensi, de Mlle Kaïsa Mitschell et de Mr Michel Maire. Je les remercie vivement.

Enfin, l'approche des singes a été possible grâce à l'aide efficace des employés de l'animalerie, Messieurs Bovet, Bouveraz et Wiler. Je les remercie de leur collaboration.

Division d'Immunologie et d'Allergologie

Département de Médecine

Hôpital cantonal, Genève

SUPPRESSION DE LA REPONSE ALLERGIQUE

* PAR UN COMPOSE TOLEROGENE DE LONGUE DUREE D'ACTION

- I. Suppression de la synthèse d'anticorps contre la Pénicilline par injection du composé Benzylpénicilloyl-Gammaglobuline Humaine (BPO-HGG), chez le singe.
- II. Suppression de la synthèse d'anticorps contre la Phénylbutazone par injection du composé Phénylbutazone-Gammaglobuline de souris (PhB-MGG), chez la souris.
- III. Suppression de la synthèse d'anticorps contre la Phénylbutazone par injection du composé Phénylbutazone-Gammaglobuline Humaine (PhB-HGG) chez le singe.

I . INTRODUCTION

Dès les premières années de son utilisation clinique, la Pénicilline s'est distinguée par son taux non négligeable d'effets secondaires indésirés : une étude, effectuée en 1943 par KEEFER et col. (1), portant sur 500 cas d'infections traitées à la Pénicilline, révélait une incidence d'effets secondaires d'environ 14% dont, principalement, des réactions urticariennes, des états fébriles transitoires avec frissons, ainsi que des thrombophlébites au point d'injection.

Plus tard, une enquête de même type effectuée auprès de 1 637 médecins américains, rapportait les chiffres suivants : 1 616 manifestations indésirables dont 1 608 de nature allergique, avec près de 800 chocs anaphylactiques dont 72 mortels (2).

La multiplicité des formes cliniques montra rapidement que les 4 types de réaction immune, décrits par GELL et COOMBS, étaient impliqués (3), à savoir :

1. la réaction anaphylactique (type I) mettant en jeu les IgE.
2. la réaction cytotoxique (type II), à IgG avec activation du complément.
3. la maladie sérique (type III), intéressant les complexes AG-AC circulants et le complément.
4. la réaction cellulaire (type IV).

Dans une analyse de 1 047 patients allergiques à la Pénicilline, GIRARD et col. (4) relèvent que les manifestations d'hypersensibilité cellulaire sont impliquées dans 70% des cas, alors que les réactions humorales couvrent les 30% restants. Parmi les 224 patients qui ont malencontreusement reçu un nouveau traitement de Pénicilline, seuls 78 d'entre

eux ont présenté des manifestations cliniques, soit le 35%, résultat en accord avec l'étude de ADKINSON et col. (5). Les formes cliniques des ré-expositions sont toutefois incomparablement plus graves, et ceci principalement à cause de l'augmentation dramatique des réactions anaphylactiques ; en effet, le pourcentage des réactions humorales, surtout anaphylactique mais aussi du type maladie sérique, croît considérablement pour atteindre plus de 50% des manifestations cliniques (4).

II . LES DETERMINANTS ANTIGENIQUES DE LA PENICILLINE

La Pénicilline est constituée d'un noyau bêta-lactame et d'un noyau thiazolidine, juxtaposés ; sa chaîne latérale est le plus fréquemment faite d'un radical benzyl (Fig. 1). Comme la majorité des médicaments, elle est un haptène, à savoir une molécule de petite taille (PM : 260), possédant trop peu de déterminants antigéniques pour être immunogène à l'état libre ; elle devient par contre fortement allergisante (plus de 50% des accidents allergiques liés aux agents antibactériens (6) lorsqu'elle se combine à une protéine (carrier). Celle-ci peut-être d'origine plasmatique (albumine, gamma-globuline...) ou tissulaire, mais il peut aussi s'agir de protéines extra-corporelles, comme la carboxyméthylcellulose, par exemple, qui entrent dans la composition de certaines préparations de Pénicilline. PARKER et col. (7), LEVINE (8) ainsi que DE WECK et col. (9) qui ont étudié de manière approfondie toutes les formes sensibilisantes de la Pénicilline, ont montré que la benzylpénicilline forme principalement un composé pénicilloyl (BPO) que

Figure 1 : LA PENICILLINE

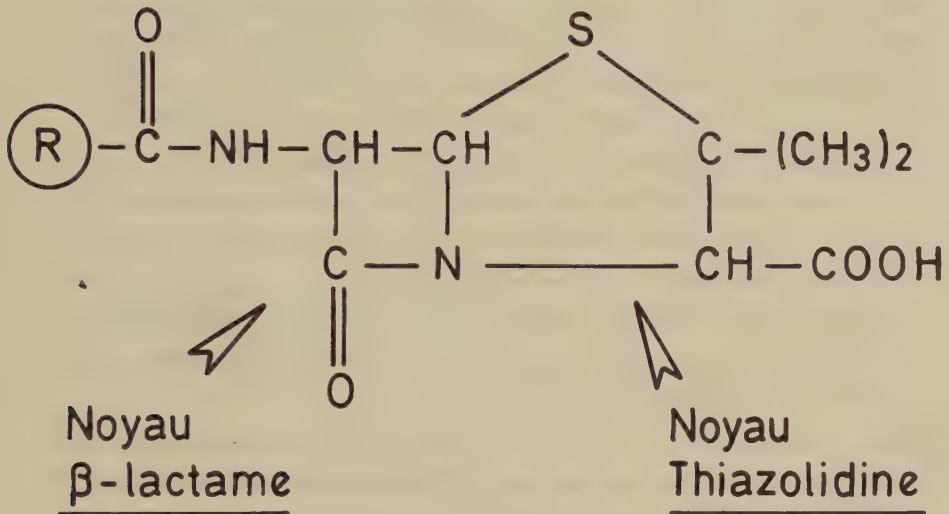
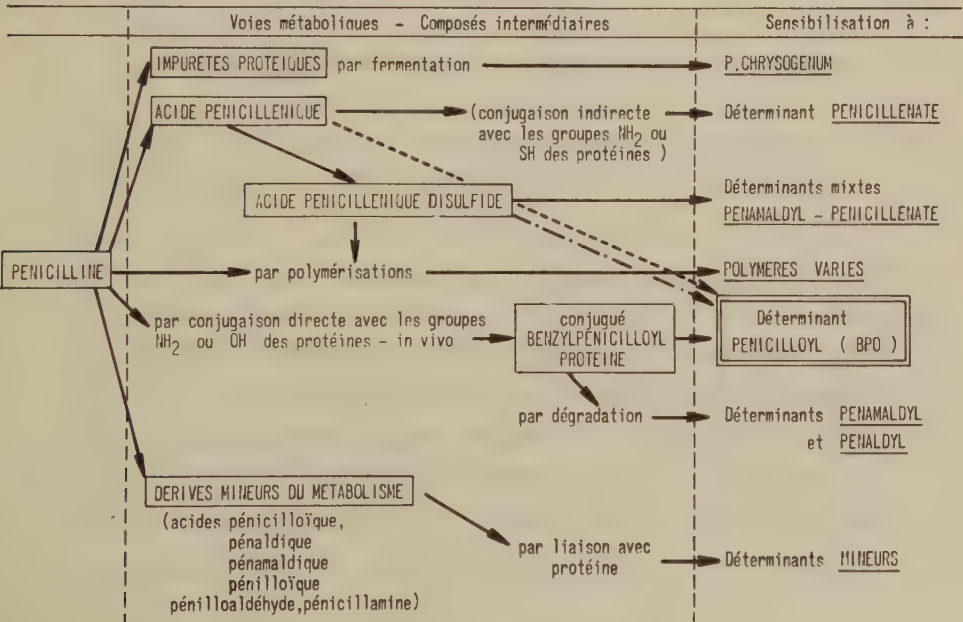


Figure 2 : LES PRINCIPALES FORMES ALLERGISANTES DE LA PENICILLINE (de WECK et coll.) (9)



l'on s'accorde à reconnaître comme le déterminant antigénique majeur (10) ; toutefois, il semble certain que tous les autres métaboliques soient aussi allergisants, mais de moindre façon (fig. 2) (9).

En laboratoire, il existe plusieurs voies par lesquelles les protéines peuvent devenir pénicilloylées :

1. la voie directe par ouverture du noyau bêta-lactame, réaction catalysée par le dinitrophénol ;
2. en milieu acide, la Pénicilline se transforme en acide pénicillénique, qui va réagir secondairement avec les groupes aminés ;
3. la troisième voie passe par la formation de l'acide pénicillénique disulfure, spontanément formé en solution aqueuse (11).

Les liaisons disulfures de la Pénicilline la rendent aussi capable de polymérisation et ces polymères peuvent être de véritables antigènes (12).

Enfin, on sait le rôle non négligeable des chaînes latérales dans la spécificité antigénique (13).

III . LES TESTS DIAGNOSTIQUES DE L'ALLERGIE A LA PENICILLINE

- a) Les tests cutanés intra-dermiques ont une fiabilité qui varie selon les auteurs de 40 à 80% (14 ; 15) ; ils sont pratiqués au moyen du radical antigénique majeur, le pénicilloyl, lié à des chaînes de lysine (16). Ils sont particulièrement utiles dans le dépistage des patients hypersensibles, enclins à développer des réactions anaphylactiques.

- b) Le test d'hémagglutination (17) a une fiabilité de 90% si l'on considère comme positif des taux d'anticorps supérieurs ou égaux à 1/16 (18).
 - c) La stimulation lymphocytaire (TTL) (18 ; 19) constitue le reflet des réponses humorales et cellulaires, son efficacité maximum (lorsque pratiquée 3 à 6 mois après l'épisode aigu) se situe à 80% (18).
 - d) Le RAST-Test, un radio-immuno-assay spécifique à la Pénicilline (20 ; 21 ; 22) a une efficacité de 85 à 100%.
- 2) L'anaphylaxie cutanée passive (23 ; 24), utilisée principalement en expérimentation animale, semble le test le plus fiable pour la détermination du taux d'anticorps IgE et est souvent prise comme référence dans la littérature.

Il existe d'autres techniques moins courantes pour le diagnostic de l'allergie à la Pénicilline :

- le test de la DEGRANULATION DES BASOPHILES (25 ; 26) d'application délicate, mais ayant une bonne corrélation clinique ;
- le test d'INHIBITION DE LA MIGRATION DES MACROPHAGES (MIF) (27 ; 28) de bonne fiabilité ;
- le test des Rosettes (29) d'application aisée, mais nettement moins sensible que les autres techniques.

CUEVAS et col (3) ont comparé la fiabilité de ces différentes techniques relativement à 50 cas d'allergie à la Pénicilline.

On voit que les tests cutanés réalisent le meilleur score pour la mise en évidence des IgE, alors que l'hémagglutination se distingue pour ce qui est des réactions de type II et III ; le TTL et le MIF semblent se partager le meilleur score pour ce qui est de l'immunité cellulaire.

S. AHLSTEDT et col. (30) ont, pour leur part, comparé

les tests d'immuno-précipitation, d'hémagglutination et de radio-immuno-essai relativement à la Pénicilline et concluent à une bonne fiabilité des deux dernières techniques.

Comme on le voit, le diagnostic de l'allergie à la Pénicilline ne peut pas être posé sur la base d'un seul test privilégié ; il est indispensable d'en combiner plusieurs pour être en mesure d'exclure ou d'affirmer l'hypersensibilité.

IV . LES MECANISMES IMMUNOGENIQUES ET LEUR REGULATION

Lorsqu'un antigène entre en contact avec un organisme, il doit être pris en charge par les macrophages pour qu'une réponse immune s'ensuive (31 ; 32 ; 33). C'est en effet à ce niveau qu'il est reconnu comme antigénique ou non. Par contact direct ou par le truchement de facteurs solubles (32 ; 33) le macrophage active alors les T-lymphocytes-helper, qui à leur tour stimulent les B-lymphocytes à se transformer en plasmocytes, générateurs d'anticorps spécifiques. A ce système activateur, fait pendant un système freinateur, mobilisant les T-lymphocytes-suppresseurs, dont la mise en action est déclenchée par les T-helper eux-mêmes ou par le contact direct avec l'antigène ; l'entremise du macrophage étant incertaine (33). Ce système exerce son effet inhibiteur sur les T-helper (feed-back), de même que sur la différenciation des B-lymphocytes (34 ; 35 ; 36).

ISHIZAKA et ADACHI (33) ont montré qu'une activité helper se dégagait des surnageants de culture de T-lymphocytes en présence de l'AG et de macrophages, mais que l'activité de-

venait suppressive si l'on n'y mettait pas les macrophages ; les auteurs utilisent entre autre cet argument pour affirmer l'unicité de l'origine des T-lymphocytes-helper et suppresseurs. On connaît à ce jour plusieurs des facteurs solubles impliqués dans ces interactions (fig. 3) (37 ; 38 ; 39) et l'on sait que la synthèse de chacune des classes d'immunoglobulines est soumise à cette double régulation (40). Par ailleurs, selon KISHIMOTO et ISHIZAKA (41) les B-lymphocytes ne sont pas tout de suite sensibles au facteur helper des T-lymphocytes : dans un premier temps, les B-lymphocytes qui ne se sont pas encore sensibilisés à l'antigène ne répondent qu'au facteur suppresseur, d'où non production d'anticorps, puis, lorsqu'ils sont tous sensibilisés, ils ne sont plus accessibles qu'au facteur helper, c'est la montée du taux d'anticorps. Le ralentissement de la production de ces anticorps, se fera ultérieurement jusqu'à l'arrêt complet, grâce au feed-back négatif des T-lymphocytes suppresseurs.

Le champ d'action exact des différentes cellules n'est toutefois pas encore tout-à-fait clair : sont-elles multipotentielles ou plutôt spécifiques d'une synthèse d'anticorps déterminée ?

Actuellement deux théories prévalent à ce sujet :

- la première voudrait que les T-lymphocytes soient subdivisés en autant de sous groupes qu'il existe de classes d'immunoglobulines, chacun activant, par le jeu de l'antagonisme helper-suppresseur, une sous-population de B-lymphocytes spécifiquement préposés à la synthèse d'un anticorps ; en fait, elle postule que le schéma général (fig. 3) est reproduit tel quel pour chaque gamma-globuline (42) (fig. 4).

- l'autre hypothèse ne prévoit qu'un seul

Légende de la figure 3 :

Facteurs Macrophagiques :

- GRF : facteur génétique restrictif du macrophage
- NMF : facteur non-spécifique du macrophage
- BFA : facteur d'activation des B-lymphocytes.

Facteurs produits par le système amplificateur :

- STAF : facteur spécifique d'activation des T-lymphocytes
- NTAf : facteur non-spécifique d'activation des T-lymphocytes.

Facteurs produits par le système helper :

- AEF : facteur d'effet allogénique
- TRF : facteur de remplacement des T-lymphocytes
- MAF : facteur d'activation du macrophage

Facteurs produits par le système suppresseur :

- STSF : facteur spécifique de suppression des T-lymphocytes
- NTSF : facteur non-spécifique de suppression des T-lymphocytes
- IBF : facteur de liaison des immunoglobulines

NB : Les facteurs, dont les flèches d'action sont représentées en pointillés, n'ont pas encore été isolés.

Cette figure est issue du travail du Dr GISLER, R.H. (82).

Figure 3 : Représentation schématique des interactions cellulaires au cours de la synthèse d'anticorps.

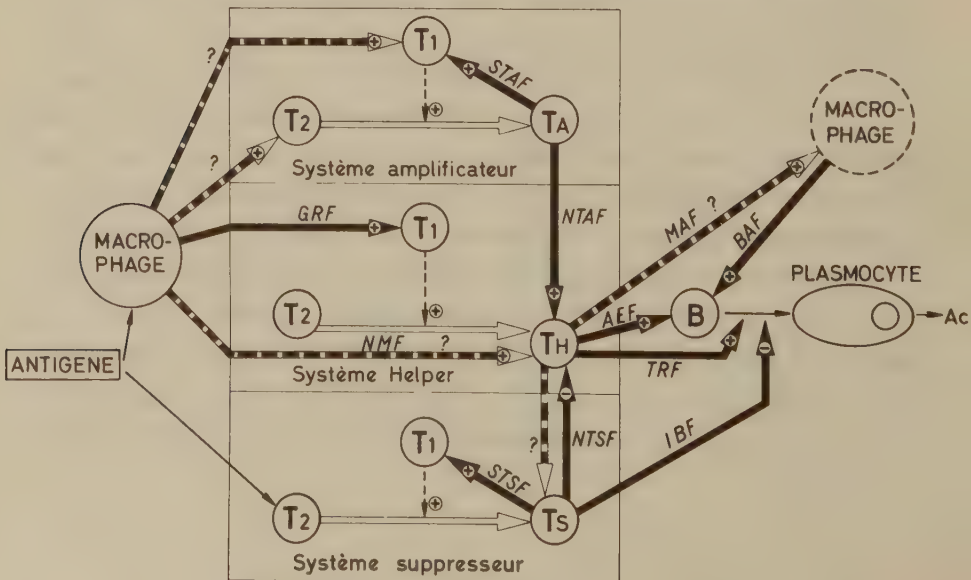
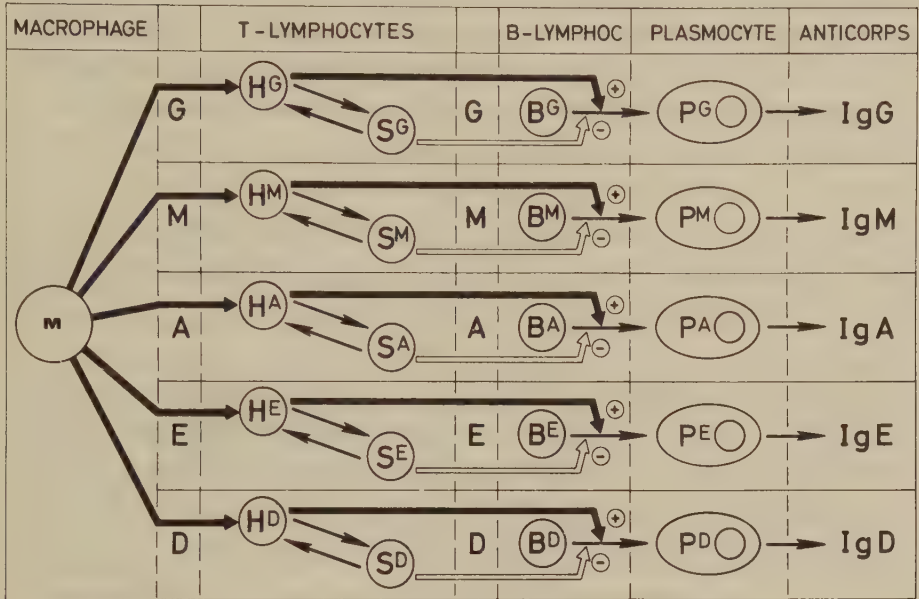
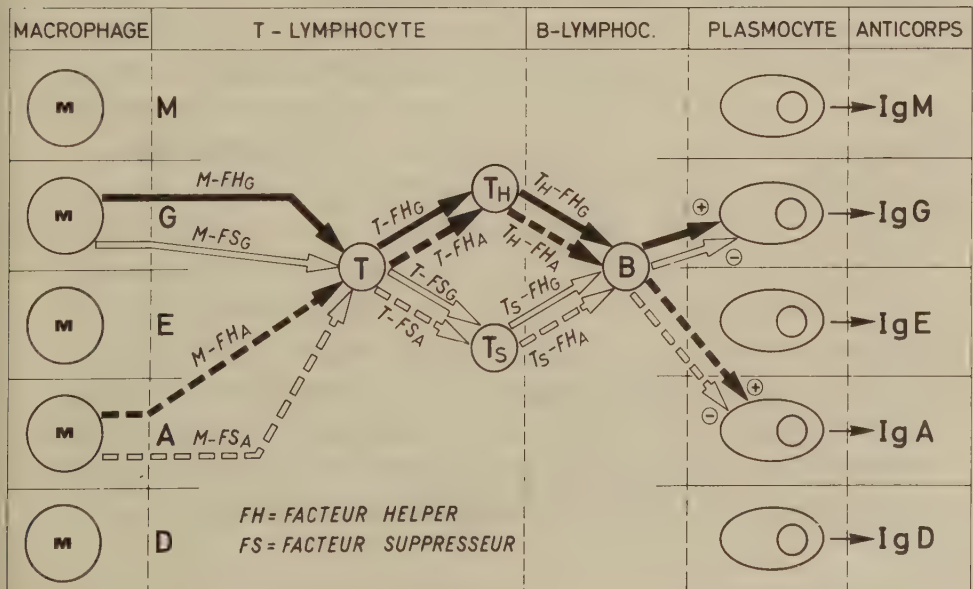


Figure 4 : Collaboration T-B lymphocytes (Théorie des sous-populations G,M,A,E,D.)Figure 5 : Collaboration T-B lymphocytes (Théorie de l'origine unitaire des T-B lymphoc.)

type de T-lymphocytes, dont la pluripotentialisé permet, selon l'information déterminante du macrophage, d'être préposée à la synthèse des IgG, IgM, IgA, IgE ou IgD d'une part, en qualité d'helper ou de suppresseur d'autre part ; les B-lymphocytes, eux aussi sans prédestination, seraient subordonnés, quant à la classe d'anticorps à produire, aux indications spécifiques des T-lymphocytes activés.

Dans la chronologie des événements, l'activité helper primerait, suivie de l'action suppresseur destinées à la limiter en intensité et en durée. (fig. 5).

Tous ces mécanismes de régulation, déjà fort subtiles, sont compliqués par le fait que la réponse immune à un antigène donné, entraîne la production simultanée de plusieurs, voire de toutes les classes d'immunoglobulines, avec, en principe, la prédominance de l'une d'entre elles.

L'allergie à la Pénicilline a fréquemment été prise comme modèle des processus de sensibilisation (43) ; pour quelle raison certains sujets développent-ils une réponse plutôt de type réaginique (IgE) alors que pour d'autres elle sera à prédominance d'IgG et d'IgM ? Le problème reste entier ; toutefois, en ce qui concerne la réaction atopique, plusieurs hypothèses ont été avancées : soit que les T-lymphocytes suppresseurs-IgE freinent insuffisamment l'activité des T-lymphocytes helper correspondants (44), soit qu'il s'agisse d'une hyperactivité des T-lymphocytes helper-IgE, éventuellement secondaires à une hypersensibilité de ces cellules au facteur activateur macrophagique, à moins que ce ne soit ces derniers qui stimulent excessivement les T-lymphocytes helper (37). On ne peut pas exclure non plus la même anomalie au niveau des B-lymphocytes-IgE que ce soit sous l'effet des facteurs stimulants des T-lymphocytes ou

ou directement des facteurs macrophagiques (45).

On trouve de très nombreux travaux expérimentaux traitant de l'immunisation chez l'animal ; la plupart d'entre eux étudient la sensibilisation au radical pénicilloyl ou au dinitrophénol.

A. LA PROTEINE PORTEUSE OU " CARRIER "

Pour induire une réponse immune, une haptène doit être lié à une protéine porteuse ("Carrier") (44) ; en laboratoire, c'est le plus souvent une albumine qui est choisie (ovalbumine, albumine sérique) en raison de l'apparement avec la physiologie humaine. On sait, toutefois, que certains composés utilisant comme carrier des extraits de ragweed ou le keyhole limpet haemocyanin (KLH), mais surtout des extraits d'*Ascaris* (42), se sont avérés de très puissants immunogènes. Force est de constater que l'induction de la réponse allergique au conjugué haptène-carrier dépend de la reconnaissance par les T-lymphocytes de la protéine porteuse. Il a été expérimentalement démontré qu'une pré-immunisation avec le carrier seul entraînait une augmentation ainsi qu'une accélération de la réponse tant primaire que secondaire (45 ; 46).

Par contre si le carrier n'est pas reconnu comme antigénique, le composé, dans son ensemble, ne le sera pas non plus (47). La réponse immune envers l'haptène ne s'effectue qu'une fois cette reconnaissance réalisée ; à l'exception des cas où l'haptène est apte à stimuler d'emblée les B-lymphocytes (48), cette étape se fait aussi par l'entremise des T-lymphocytes. Les expériences de OKUDAIRA et ISHIZAKA (49) ont montré que chaque carrier mobilise une sous-population de T-lymphocytes spécifiques ; en effet, après une première sensibilisation à dinitrophénol-*ascaris*

(DNP-ASC), ils constatent une très forte réponse immune secondaire à la ré-injection de ce même conjugué ; la réponse est plus faible, mais supérieure à celle obtenue lors de la première sensibilisation, si le conjugué utilisé possède un carrier différent (DNP-ovalbumine). En effet, après la première sensibilisation, les B-lymphocytes-DNP, qui ont été stimulés, se sont multipliés et sont devenus capables de ré-agir avec une intensité plus grande lors du rappel, même s'ils reçoivent de la part des T-lymphocytes spécifiques pour l'ovalbumine une information d'intensité égale à une primo-sensibilisation : c'est pourquoi la réponse est d'intensité intermédiaire (fig. 6).

Ainsi donc, carrier et haptène induisent, chacun pour leur compte, via le système T - B - lymphocyte, la production d'anticorps IgG, IgM et IgE, dans une proportion qui est déterminée par deux variables principales :

- le rapport de molarité entre carrier et haptène (RM)
- le type d'adjuvant employé.

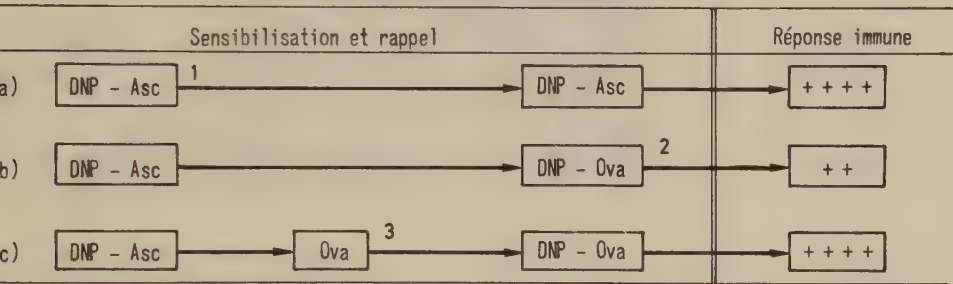
B. LE RAPPORT DE MOLARITE HAPTENE - CARRIER (RM)

Plusieurs travaux ont démontré l'importance du nombre des molécules d'haptène lié à chaque molécule de carrier (42 ; 50) et ceci relativement à la réponse immune primaire et secondaire. Ainsi, dans l'étude de LEE et SEHON (50), employant l'adjuvant hydroxyde d'aluminium ($Al(OH)_3$),

- les conjugués faiblement complexés en haptène (RM : 0,5 à 1) n'entraînent peu ou pas de réponse pour l'haptène, mais par contre une forte production d'IgG et d'IgE envers le carrier ;
- les conjugués moyennement complexés en haptène (RM environ 2 à 4) entraînent une production équivalente d'IgG et d'IgE envers le carrier et l'haptène ;
- enfin, les conjugués avec RM élevé (20 ou plus), n'indui-

Figure 6 :

ETUDE DE LA COLLABORATION ENTRE
LES T - LYMPHOCYTES HELPER SPECIFIQUES DU CARRIER ET
LES B - LYMPHOCYTES SPECIFIQUES DE L'HAPTENE



1) DNP - Asc = DiNitroPhénoI - Ascaris

2) DNP - Ova = DiNitroPhénoI - Ovalbumine

3) Ova = Ovabulmine

(inspiré de l'étude de OKUDAIRA et ISHIZAKA (49))

Figure 7 : La réponse immune envers la protéine porteuse (Carrier) et l'Haptène selon leur rapport de molarité (R.M.)

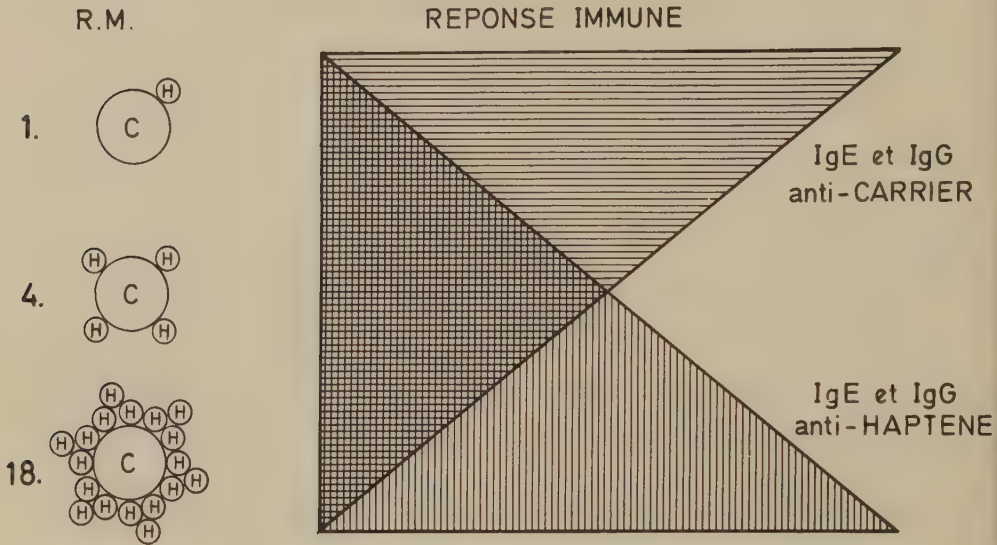
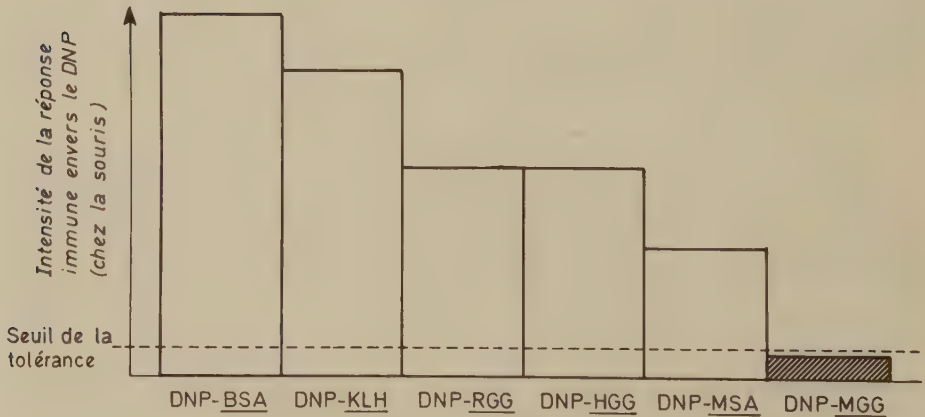


Figure 8 Le rôle de la protéine porteuse dans l'induction de la tolérance.

(Golan et Borel - 58)



DNP : Di Nitro Phénol
BSA : Albumine bovine
KLH : Hémocyanine
RGG : IgG de rat

HGG : IgG humaine
MSA : Albumine de souris
MGG : IgG de souris

sent une réponse IgG et IgE que contre l'haptène.

Schématiquement on peut dire que la réponse immune se fait contre l'élément le plus représenté du composé (fig. 7).

C. LE ROLE DE L'ADJUVANT

Pour des conditions expérimentales identiques, une immunisation avec l'adjuvant de FREUND complet (CFA) entraîne une réponse exclusivement en IgG et IgM, alors qu'avec l'alun ($\text{Al}(\text{OH})_3$) la production d'IgE prédomine sur celle d'IgG et IgM, qui reste malgré tout présente (42 ; 51 ; 52). L'explication du phénomène n'est pas connue ; toutefois, il semblerait que l'action spécifique de l'alun se situe au niveau de la prolifération des T-lymphocytes helpers, régulateurs de la réponse immune envers le carrier (53). Il s'ensuit une production d'IgG et d'IgE dirigée contre l'haptène ainsi que contre le carrier (54).

Pour ISHAZAKA et col. (55) cela constitue la preuve qu'il existe deux sous-classes de T-lymphocytes, l'une régulatrice des IgE, l'autre des IgG ; KATZ et col. (56), ainsi que STREJAN et col. (42) pensent qu'il s'agit plutôt d'une seule classe de T-lymphocytes capables de synthétiser l'une ou l'autre des gamma-globulines suivant l'information transmise par l'adjuvant ! Par ailleurs, STREJAN (42) a montré dans ses travaux qu'un vaccin de Bordetella-Pertussis, injecté lors d'une pré-immunisation avec le carrier, détermine, au cours de l'immunisation ultérieure, une production d'anticorps IgE et IgG, comme c'est le cas pour l'alun ; une des explications les plus satisfaisantes de cette spécificité est celle évoquée par TADA et col (57) : Bordetella-Pertussis sécréterait un facteur de promotion lymphocytaire (lymphocytosis promoting factor) capable d'inhiber l'action des T-lymphocytes supprimeurs-IgE, voire de les détruire,

laissant ainsi libre cours aux T-lymphocytes helper-IgE de produire cette gamma-globuline en excès.

Le pouvoir immunogénique des composés est dépendant du carrier ; nous avons vu précédemment que les extraits d'*ascaris* entraînait une réponse immune plus importante envers l'haptène que si l'on utilisait une albumine ; on se rendit vite compte qu'avec certaines protéines porteuses, les conjugués n'entraînaient aucune sensibilisation ; qui plus est, il devenait impossible de sensibiliser les animaux, ainsi traités, par des injections ultérieures de composés pourtant réputés fortement immunogènes. On constatait par ailleurs que les animaux perdaient leur sensibilisation envers le conjugué auquel ils avaient primitivement bien répondu.

Le concept du conjugué haptène-carrier tolérogène était né.

GOLAN et BOREL (58) ont étudié, chez la souris, l'effet immunogénique de plusieurs carrier : ils montrent (fig. 8) qu'avec les IgG autologues, aucune réponse immune n'apparaît et qu'il s'établit une tolérance envers l'haptène concerné ; plus la protéine est immunogéniquement étrangère à l'hôte, plus le pouvoir immunogène s'accroît et décroît la tolérance (59 ; 60).

V . LE TOLEROGENE

Plusieurs composés aux propriétés tolérogènes ont été étudiés à ce jour : l'haptène envisagé est lié tantôt à des globules rouges autologues (61), tantôt à des protéines de faible poids moléculaire comme l'acide D-glutamique et la D-lysine (48 ; 62) ; c'est à cette dernière catégorie

qu'il faut rattacher le premier conjugué jamais créé et utilisé en pratique pour le traitement d'une allergie médicamenteuse : le M- ξ -Benzyl-Pénicilloyl-alpha-Formyl-L-lysine (BPO-FLYS) (63) capable de neutraliser les phases aiguës de toutes les formes d'allergie à la Pénicilline (64). Sa demi-vie est malheureusement courte (10 à 12 heures environ) ce qui nécessite de fréquentes injections et limite donc son emploi aux épisodes graves. L'expérience clinique de ce médicament montre qu'il entraîne souvent une disparition des symptômes allergiques dans les quelques heures* suivant son administration, et ceci même en persistance du traitement à la Pénicilline. Dans les autres situations, on note un très net raccourcissement de la durée des manifestations allergiques par rapport à des sujets non traités ; une fois disparus, les symptômes ne réapparaissent plus, même si l'antibiothérapie se poursuit, à la condition expresse toutefois de ne pas interrompre la couverture de BPO-FLYS.

L'action thérapeutique résulte de la saturation, par cet haptène monovalent, des récepteurs antigéniques des anticorps IgE qui ne peuvent dès lors plus se fixer sur les basophiles ou les mastocytes (65) ; le même phénomène intéresse les IgG. Toutefois, la nette diminution voire la disparition du taux des anticorps anti-Pénicilline est plus difficile à expliquer : on peut supposer que les composés monovalents, inaptes, en raison de la trop petite taille de leur carrier, à induire une réponse immune par les T-lymphocytes qui les adsorbent, n'enaturent pas moins les sites récepteurs antigéniques, rendant les T-lymphocytes incapables d'entrer ultérieurement en contact avec les formes allergisantes de la Pénicillines (63).

Depuis quelques années toutefois, l'effort se porte sur les conjugués dont le carrier est une gamma-globuline ; la raison principale de cet intérêt est la durée prolongée de l'effet tolérogène (de 2 à 6 mois environ) (47 ; 50 ; 66 ; 67), mais aussi parce que ces composés fournissent un modèle expérimental idéal à l'étude des mécanismes immunitaires.

A. LES PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DU TOLEROGENE

De même que le Rapport de Molarité (RM) entre haptène et carrier est primordial pour l'immunisation, de même le nombre de molécules d'haptène lié à une molécule de carrier tolérogène est déterminante quant à l'obtention de la tolérance.

LEE et SEHON l'ont particulièrement bien démontré chez la souris à propos de la Pénicilline (66) : la suppression de la réponse réaginique est maximale pour un RM entre BPO et gamma-globulines de 8 à 14, ceci pour la réponse immune tant primaire que secondaire (66). Lorsque le RM est inférieur à 1 ou supérieur à 30, la tolérance est nulle ; entre 2 et 6, ou 16 et 30, l'effet tolérogène est proportionnel à la dose injectée, sans jamais atteindre l'effet maximum (50 ; 62).

D'une manière générale, il faut dix fois plus de composé tolérogène pour la désensibilisation qu'il n'a fallu de conjugué pour l'immunisation (61).

L'effet le plus durable est obtenu lorsque le tolérogène est injecté quelques heures avant le conjugué sensibilisant (50 61) ; on constate en effet que plus ce temps augmente et plus vite disparaît la tolérance ; le mécanisme de ce phénomène est inconnu. LEE et SEHON sont parvenus à maintenir cette tolérance durant une période indéterminée grâce à une injection chaque deux mois (66).

B. LES MODES D'ACTION DU TOLEROGENE

Au même titre que les mécanismes d'immunisation, ceux de la tolérance ne sont pas encore complètement élucidés. Pour l'heure, on en est réduit aux hypothèses. Un des rares points acquis est que cet état dépend de propriétés acquises par les lymphocytes ; en effet, la tolérance est transmissible d'un animal à l'autre grâce aux seuls lymphocytes (50 ; 62 ; 66 ; 69). On sait aussi qu'elle est spécifique de l'haptène (66 ; 69) : si l'on rend un animal tolérant au DNP par un composé de DNP-gamma-globuline, il ne répondra pas à l'injection de DNP-ovalbumine ; par contre, il sera tout-à-fait capable de développer une réponse immune envers les conjugués benzyl-pénicilloyl-ovalbumine ou phényl-butazone-albumine bovine.

1. Blocage lymphocytaire de surface et/ou central

Les travaux de nombreux auteurs concluent à une saturation, par le tolérogène, des récepteurs antigéniques de surface des lymphocytes, qui ne peuvent ainsi plus réagir avec l'antigène (70 ; 71 ; 72). BENSON et BOREL (71) fondent quant à eux leur argumentation sur le fait que les lymphocytes tolérants ont un nombre de récepteurs libres pour les antigènes plus petits que les lymphocytes normaux ; ils montrent aussi que s'ils sont soumis à une incubation d'au moins 24 heures, il s'ensuit une scission entre conjugués et sites récepteurs avec disparition de la tolérance. Ce mécanisme de blocage intéresse aussi bien les T-lymphocytes, responsables de la réponse immune envers le carrier, que les B-lymphocytes, assignés à la réponse immune envers l'haptène (61 ; 73). On sait maintenant que la portion Fc de la gamma-globuline joue un rôle capital dans le mécanisme de la tolérance (74). Certains affirment que le tolérogène se fixe aux sites récepteurs lymphocytaires de la même

manière que le font les conjugués immunogènes (72) ; la seule différence résidant dans la non reconnaissance antigénique de l'immunoglobuline (72).

D'autres, par contre, défendent l'hypothèse que l'effet tolérogène est déterminé par le stéréochimie du composé qui mettrait à nu des zones dites tolérogènes, habituellement cachées dans les conjugués sensibilisants (58), tout en masquant d'autres zones à l'effet immunisant.

Dans cette même optique, il a été démontré que la modification chimique d'un carrier, réputé immunogène, par un traitement à l'urée, au polyéthylène-glycol (75), ou par ultracentrifugation (58 ; 73 ; 76) donne aux conjugués des propriétés tolérogènes.

Il semble que l'on puisse distinguer deux phases dans l'établissement de la tolérance :

- au cours des dix premiers jours, les T-lymphocytes satureront progressivement leur récepteur de surface en tolérogènes en fixant ceux-ci par l'immunoglobuline ; ainsi bloqués, ces T-lymphocytes perdent leur fonction helper sur les B-lymphocytes, qui sont de toute façon insensibles, à ce stade, à cet effet stimulant (41), et voient leur production de facteurs suppresseurs, auxquels les B-lymphocytes sont très réceptifs, s'accroître considérablement ; il s'ensuit une diminution graduelle de la production d'anticorps. Cette période, pendant laquelle les T-lymphocytes assument à eux seuls la totalité de la tolérance, se prolonge jusqu'aux environs de la quatrième semaine ; ce laps de temps permet aux B-lymphocytes de se saturer à leur tour en tolérogènes, par fixation du pôle hapténique (72) et de devenir, comme le font les T-lymphocytes, non réactifs à tout stimulus.

- la tolérance est dès lors T et B-lymphocytes dépendante.

Pour les antigènes T-lymphocytes indépendants (48), la tolérance semble s'établir plus rapidement par le fait que le tolérogène neutralise d'emblée les B-lymphocytes sans passer par le stade de saturation des T-lymphocytes (62). Si la présence du tolérogène sur les sites antigéniques lymphocytaires n'est mise en doute par aucun auteur, par contre, il est loin d'être accepté par tous, que ce soit le seul mécanisme de la tolérance. Nombreux sont ceux qui pensent qu'il ne s'agit là que d'un mécanisme inducteur d'un processus plus fondamental, déterminant un blocage central et définitif du lymphocyte (62) ; la restitution de la sensibilité à l'antigène donné ne se produisant qu'avec la réapparition d'une nouvelle génération lymphocytaire, auquel la tolérance n'est pas transmise (48 ; 62). Les défenseurs de cette tendance argumentent que les lymphocytes tolérants conservent leurs propriétés, même après avoir été spoliés de leurs récepteurs et des antigènes attenants, par trypsinisation (48 ; 62) ; d'autre part, on sait que, en présence d'une quantité égale de deux conjugués différents, il devrait s'établir un phénomène de compétition avec, en l'occurrence, une diminution de moitié de la réponse immune normale ; or, la tolérance est totale et ceci même chez un animal préalablement sensibilisé (48). En définitive, il semble des plus probables que la TOLERANCE SOIT LE RESULTAT D'UN ARRET DE L'ACTIVITE IMMUNOLOGIQUE INTRA-LYMPHOCYTAIRE, SECONDAIRE A UN BLOCAGE DES SITES RECEPTEURS DE SURFACE.

Il n'est pas certain que ce soit le tolérogène tel qu'on l'injecte qui provoque tout le processus de la tolérance. FELDMANN et DIENER (77) ont imaginé que le conjugué haptène-gamma-globuline déterminait, malgré tout, une réponse immune, mais qu'il se constituait, au fur et à mesure de

la production d'anticorps anti-toléro-gène, des immuns complexes " toléro-gène-IgG " aptes à saturer progressivement les sites immunoglobuliniques des lymphocytes et à bloquer ainsi leur activité. Cette hypothèse a le mérite de fournir une explication plausible à la " self-tolérance " : en effet, en fin de vie intra-utérine, les antigènes foetaux, futurs selfs, induiraient une production d'anticorps, responsables de l'apparition progressive d'immuns complexes, qui, par saturation lymphocytaire de surface, entraîneraient la self-tolérance. Ce modèle est en partie confirmé par les expériences de HAMAOKA et col. (51) qui montrent que, chez l'animal, l'injection simultanée de l'antigène et de l'anticorps correspondant, n'entraîne aucune réponse immune ; bien au contraire, elle détermine un état de tolérance durable, analogue à celui obtenu par les conjugués toléro-gènes habituels ; on peut imaginer qu'antigène et anticorps, une fois dans la circulation sanguine, se combinent, déterminant des immuns complexes au pouvoir toléro-gène.

2. La rupture de tolérance

Dans leurs travaux utilisant des globules rouges isologues, comme carrier toléro-gène, liés au trinitrophénol (TNP-GR_i), NAOR et MISHELL (61) sont parvenus à rompre la tolérance grâce à une injection massive d'un conjugué de TNP et de globules rouges de mouton. Leur explication, qui s'inscrit dans la théorie de la tolérance par blocage des sites antigéniques de surface lymphocytaire, est la suivante : l'inhibition de la réponse immune des lymphocytes bloqués est le résultat d'une quantité relativement petite de toléro-gène ; un grand apport de conjugués immunogènes serait apte à restituer leurs fonctions aux lymphocytes.

Une telle rupture de tolérance n'a pas pu être obtenue

jusqu'alors avec des conjugués haptène-gammaglobuline ; il est probable que la nature même du carrier (IgG isologue) en soit responsable, par le fait qu'il existe, à l'opposé des globules rouges, des récepteurs d'immunoglobulines à la surface des lymphocytes et que les conjugués tolérogènes les saturent totalement, avec une grande stabilité.

Récemment, NEVEU a montré qu'une pré-immunisation au moyen de mycobactéries entraînait une suppression de l'hypersensibilité retardée envers l'haptène par établissement d'une tolérance envers le carrier (78), sans toutefois que les réactions d'hypersensibilité immédiate ne soient perturbées. L'action tolérogène des mycobactéries se porte vraisemblablement au niveau des macrophages plutôt qu'à celui des T-lymphocytes.

C'est une preuve supplémentaire que chaque cellule (macrophages, T-lymphocytes, B-lymphocytes et polynucléaires probablement) jouent un rôle capital dans l'établissement de la réponse immune et par voie de conséquence dans l'état de tolérance.

VI . BUT DU TRAVAIL

Avec la découverte des composés tolérogènes à longue durée d'action est né l'espoir de pouvoir traiter bon nombre d'allergies médicamenteuses, pour lesquelles, nous n'avons, pour l'instant, que des thérapeutiques symptomatiques. Toutefois, l'essentiel des recherches ne s'est fait jusqu'alors que sur des petits rongeurs (66 ; 74) ou chez le chien (79).

Le but du présent travail consiste à s'assurer que les données relatives aux conjugués tolérogènes sont aussi valables pour le primate (*cercopithecus ethiops*) ; le singe présente en effet des caractéristiques immunologiques identiques à l'homme (80) et il constitue donc la dernière étape avant l'application humaine.

Dans un second temps, nous avons envisagé de réaliser tout d'abord sur un groupe de souris suisses, puis sur des singes, le même protocole expérimental d'immunisation et de tolérance de la Pénicilline pour un autre médicament très connu pour ses problèmes allergiques : la phénylbutazone.

VII . METHODES

Nous avons entrepris de sensibiliser à la Pénicilline, par voie sous-cutanée, trois singes grâce à un composé de benzyl-pénicilloyl-ovalbumine (BPO-OVA, 3 mg), mélangé à 100 mg d'hydroxyde d'albumine ($\text{Al}(\text{OH})_3$), puis de les rendre tolérants par l'administration sous-cutanée du tolérogène benzyl-pénicilloyl-gammaglobuline humaine (BPO-HGG, 30 mg). Parallèlement, nous injectons d'emblée deux singes avec le conjugué tolérogène. Un mois, puis deux mois après avoir obtenu la tolérance, nous tentions de prouver qu'une resensibilisation à la Pénicilline (par l'administration de BPO-OVA plus $\text{Al}(\text{OH})_3$ était impossible.

Deux des animaux tolérants reçurent, par ailleurs, un composé de benzyl-pénicilloyl-albumine bovine (BPO-BSA, 3 mg) plus $\text{Al}(\text{OH})_3$ dans le but de confirmer qu'une rupture de la tolérance acquise était impossible et que celle-ci était

haptène-spécifique, indépendante du carrier.

Le schéma expérimental pour la phénylbutazone a été le même. Dans un premier temps, nous avons sensibilisé un groupe de souris par une injection avec rappel 10 jours plus tard de phénylbutazone-albumine bovine (PhB-BSA, 10 microg), plus $\text{Al}(\text{OH})_3$ (1 mg), par voie intra-péritonéale. A la 3ème semaine, était injecté toujours par voie intra-péritonéale, le conjugué tolérogène phénylbutazone-gamma-globuline de souris (PhB-MGG, 250 microg), suivi 4 heures plus tard, d'une injection de rappel du composé PhB-BSA ; cette expérimentation chez la souris s'étant avérée concluante, nous avons entrepris de sensibiliser deux singes grâce à un composé de PhB-BSA (3 mg), mélangé à 100 mg d' $\text{Al}(\text{OH})_3$, puis de les rendre tolérants par l'administration sous-cutanée du tolérogène PhB-HGG (30 mg). Parallèlement, nous injectons d'emblée un singe avec le conjugué tolérogène. Un mois après avoir obtenu la tolérance, nous tentions de prouver qu'une resensibilisation à la phénylbutazone, par l'administration du conjugué immunogène, était impossible.

VIII . MATERIEL ET TECHNIQUES

L'expérimentation a été effectuée sur cinq singes de type cercopithecus-ethiops, âgés de 5 à 7 ans, pesant entre 3,5 et 4 kg et n'ayant jamais subi d'autre expérimentation.

Les tests diagnostiques dont l'énumération se trouve ci-après ont été effectués comme suit :

a) pour l'expérimentation de type I (fig. 9) :

- 1) Avant sensibilisation (jour 0)
- 2) Après sensibilisation et rappel, juste avant le tolérogène (jour 20)
- 3) Après le tolérogène (jour 40)
- 4) Avant la première tentative de resensibilisation (jour 55)
- 5) Après la première tentative de resensibilisation (jour 75)
- 6) Avant la seconde tentative de resensibilisation (jour 105)
- 7) Après la seconde tentative de resensibilisation (jour 125)
- 8) Après le troisième rappel (jour 180).

b) pour l'expérimentation de type II (fig. 10) :

- 1) Avant le tolérogène (jour 0)
- 2) Après le tolérogène (jour 20) qui est aussi juste avant la 1ère sensibilisation.
- 3) Après la première tentative de sensibilisation (jour 40).
- 4) Avant la seconde tentative de sensibilisation (jour 60).
- 5) Après la seconde tentative de sensibilisation (jour 80).
- 6) Après la tentative de rupture de tolérance (jour 130).
- 7) Après le troisième rappel (jour 180).

Figure 10 : Marche à suivre des expérience du type II
concernant la pénicilline (singes D;E.)

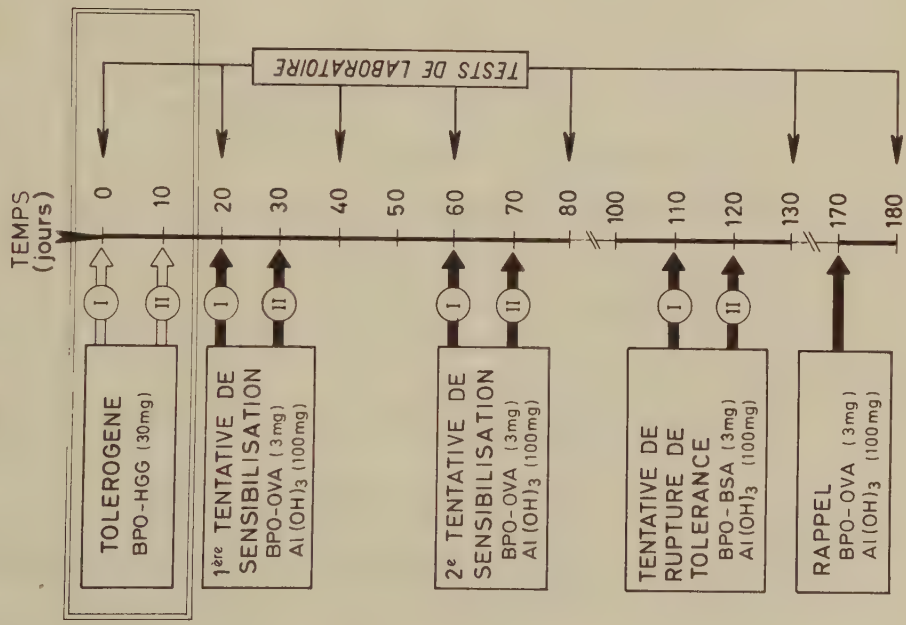
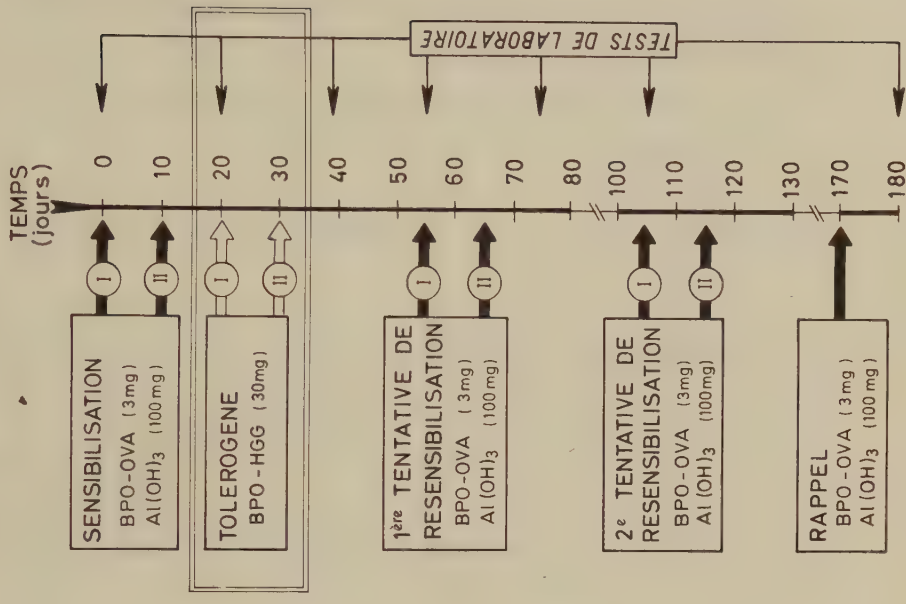


Figure 9 : Marche à suivre des expériences de type I
concernant la pénicilline(singes A;B;C.)



A. Concernant la Pénicilline, les tests suivants ont été pratiqués à chaque fois :

* Test de stimulation lymphocytaire (TTL) pour :

Contrôle	}	(Réponse immune globale)
Pénicilline		
Ovalbumine		
Gammaglobuline		
Phyto-hémagglutinine	}	

La technique utilisée a été décrite précédemment (18 ; 19). Les résultats sont appréciés en calculant l'index d'activité (Index-TTL), à savoir le rapport entre la radioactivité (exprimée en cpm) du Test de Transformation Lymphoblastique (TTL) pour l'antigène et la radioactivité du TTL contrôle ; le rapport est jugé positif s'il est égal ou supérieur à 1,5.

* Hémagglutination pour :

Pénicilline (IgG + IgM)

La technique utilisée a été décrite précédemment (17). Les résultats représentent le taux de la dernière dilution entraînant une hémagglutination.

* Hémagglutination après 2-mercapto-éthanol (2ME) pour :

Pénicilline (IgG)

Le 2ME entraîne une précipitation des IgM. Les résultats sont appréciés de façon identique à une hémagglutination simple.

* Dosage des IgE totaux par radio-immuno-assay Phadebas

IgE (PRIST-Pharmaciadiagnostics)

La technique utilisée a été décrite précédemment (20). Les résultats sont jugés positifs s'ils sont supérieurs ou égaux à 500 U/ml.

* Dosage des IgE spécifiques pour la Pénicilline

(Phadebas ^R RAST-TEST pour benzyl-pénicilloil-Pharmacia diagnostics).

La technique utilisée a été décrite précédemment (21 ; 22).

Les résultats sont jugés positifs s'ils sont supérieurs ou égaux à 0,6.

* Anaphylaxie cutanée passive

La technique a été décrite précédemment (23 ; 24).

Les résultats représentent le taux de dilution du sérum déterminant, lors du test cutané, une papille de 10 mm de diamètre

Le composé sensibilisant pénicilliné a été préparé selon la méthode décrite par LEE et SEHON (66) :

Dilution dans 25 ml de K_2CO_3 (0,5 M)

250 mg de Pénicilline G (potassique cristalline)

(Squibb-rome).

et de 500 mg d'Ovalbumine (PM = 45 000)

à 37° pendant 24 heures ;

On obtient ainsi un composé BPO_4 -OVA, dont le rapport de molarité de 4 a été prouvé selon la technique de PARKER (81).

La Pénicilline non liée est séparée du composé par filtration sur une colonne de Sephadex G25, équilibrée par du tampon-phosphate-salin (PBS).

Le conjugué tolérogène pénicilliné a été obtenu en mélangeant :

à 10 ml de K_2CO_3 (0,5 M)

50 mg de gamma-globuline humaine (Laboratoire Central de la Croix-Rouge Suisse à Berne)

et 60 mg de Pénicilline G potassique cristalline

(Squibb-rome).

pendant 30 minutes à 4°.

On obtient ainsi un conjugué BPO₁₂-HGG. La Pénicilline non liée est séparée du tolérogène par filtration sur une colonne de Séphadex G25, équilibrée dans le PBS.

B. Concernant la phénylbutazone, les 2 types d'expérience sont schématisés par les figures 11 et 12 ; les tests suivants ont été pratiqués à chaque fois, sur les singes :

* Stimulation lymphocytaire pour :

Contrôle	}	(Réponse immune globale)
Phénylbutazone		
BSA		
Gamma-globuline humaine		
Phytohémagglutininine		

La technique et le mode d'appréciation des résultats ont été décrits précédemment.

* Hémagglutination pour la phénylbutazone (conjugué phénylbutazone-BSA)

(IgG + IgM)

La technique et le mode d'appréciation des résultats ont été décrits précédemment.

* Anaphylaxie cutanée passive chez le cobaye pour la phénylbutazone et la BSA.

La technique et le mode d'appréciation des résultats ont été décrits précédemment.

Le composé sensibilisant à base de phénylbutazone a été préparé en s'inspirant de la méthode décrite par OZEKI et TEJIMA (82) :

Dilution dans 10 ml de NaH₂PO₄ (pH : 7,45)
de 3,25 mg de phénylbutazone (Ciba-Geigy, Bâle)
et de 200 mg d'albumine sérique bovine (BSA) PM :
69 000

Figure 11 : Marche à suivre des expériences de type I concernant la phénylbutazone (singes F, G)

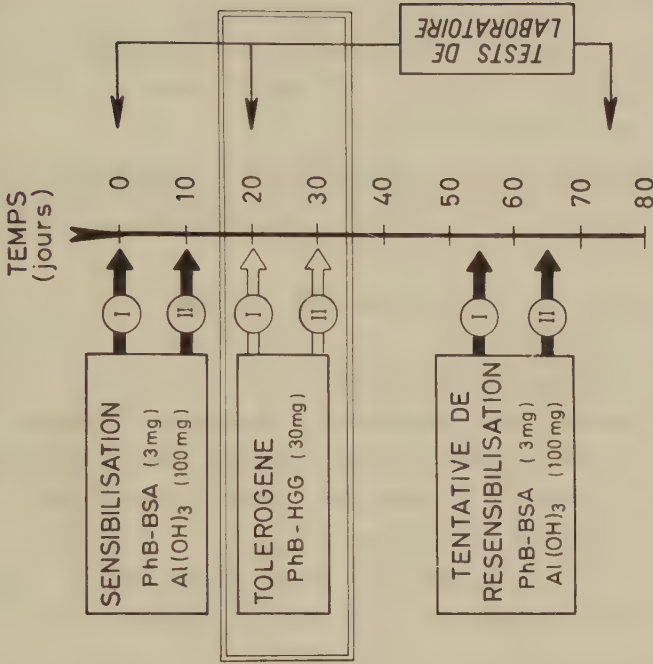
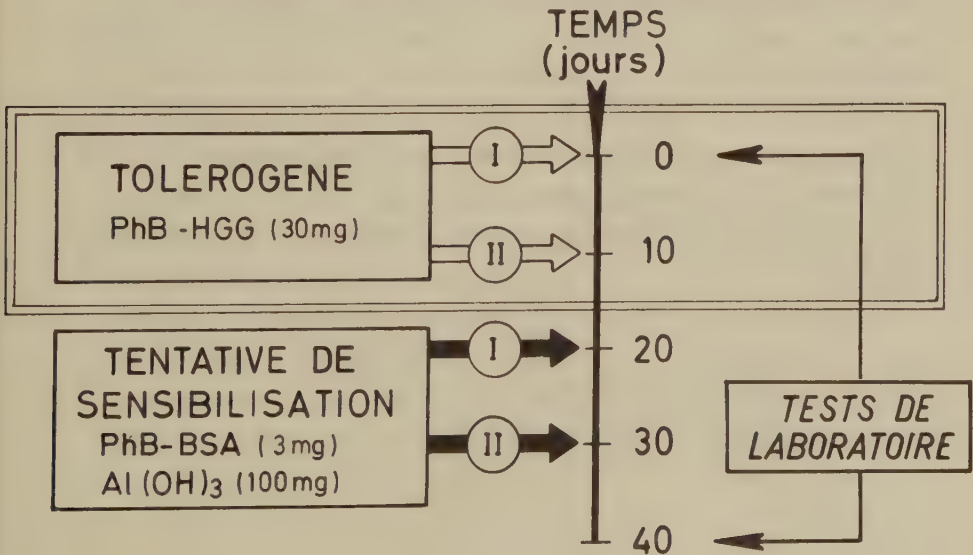


Figure 12 : Marche à suivre des expériences du type II concernant la phénylbutazone (singe H)



à 37° pendant 24 heures.

On obtient ainsi un composé phénylbutazone-BSA, dont le rapport de molarité de 2,5 a été prouvé selon la technique décrite par CHIGNELL (83).

La phénylbutazone non liée est séparée du conjugué par filtration sur une colonne de Séphadex G25, équilibrée par un tampon-phosphate à pH 7,45.

Le conjugué tolérogène à base de phénylbutazone a été obtenu en mélangeant :

à 10 ml de NaH_2PO_4 (pH : 7,45)

3,25 mg de phénylbutazone (Ciba-Geigy, Bâle)

200 mg de gamma-globuline humaine (HGG : Laboratoire Central de la Croix-Rouge Suisse à Berne)

à 37° pendant 24 heures.

On obtient ainsi un conjugué phénylbutazone-HGG dont le rapport de molarité de 2,5 a été prouvé selon la technique de CHIGNELL (83). La phénylbutazone non liée est séparée du tolérogène par filtration sur une colonne de Séphadex G25 dans un tampon-phosphate à pH 7,45.

Dans l'expérience préliminaire avec les souris suisses, les seuls tests pratiqués ont été des PCA pour la phénylbutazone et la BSA, effectués après la sensibilisation, puis après la désensibilisation ; par ailleurs, lors de la synthèse du conjugué tolérogène à base de phénylbutazone, nous avons utilisé une gamma-globuline de souris (MGG), tout en suivant le même protocole de synthèse qu'avec les singes.

IX . RESULTATS DE L'EXPERIENCE CONCERNANT LA PENICILLINE

CHEZ LES SINGES

A. Immunisation envers la Pénicilline (BPO) et l'ovalbumine grâce au conjugué BPO₄-OVA.

Les singes A, B et C, de type cercopithecus etiops, ont reçu aux jours 0 et 10 une injection sous-cutanée de 3 mg de Benzyl-Pénicilloyl-Ovalbumine (BPO₄-OVA) mélangé à 100 mg d'alun. Au jour 20, les examens de laboratoire nous confirmaient qu'une bonne réponse immune avait été induite contre la Pénicilline ainsi que contre l'ovalbumine (tableaux A, B, C).

1. Anticorps dirigés contre la Pénicilline (l'haptène)

Comme le résume les figures 13, 15, la réponse immune globale (TTL) et le taux des IgG et IgM anti-pénicilline ont été significatifs pour les singes A et C, mais pas pour le B (fig. 14) ; les trois singes ont toutefois présenté une bonne production d'anticorps IgE anti-pénicilline.

2. Anticorps dirigés contre l'ovalbumine (le carrier)

Les figures 16, 17 et 18 montrent que les trois singes ont développé une réponse immune globale (TTL) envers la protéine porteuse (ovalbumine) ; toutefois, alors que les singes A et C montraient un TTL positif immédiatement après l'immunisation, le singe C ne le fit qu'ultérieurement (fig. 18).

La réponse en IgE contre l'ovalbumine est positive pour les trois singes dès le premier contrôle après la sensibilisation.

Figure 13: Réponse immune globale (INDEX-TTL) et taux des anticorps IgE, IgG, IgM dirigés contre la PENICILLINE (Haptène) au cours de l'expérimentation faite sur le singe (selon le type I)

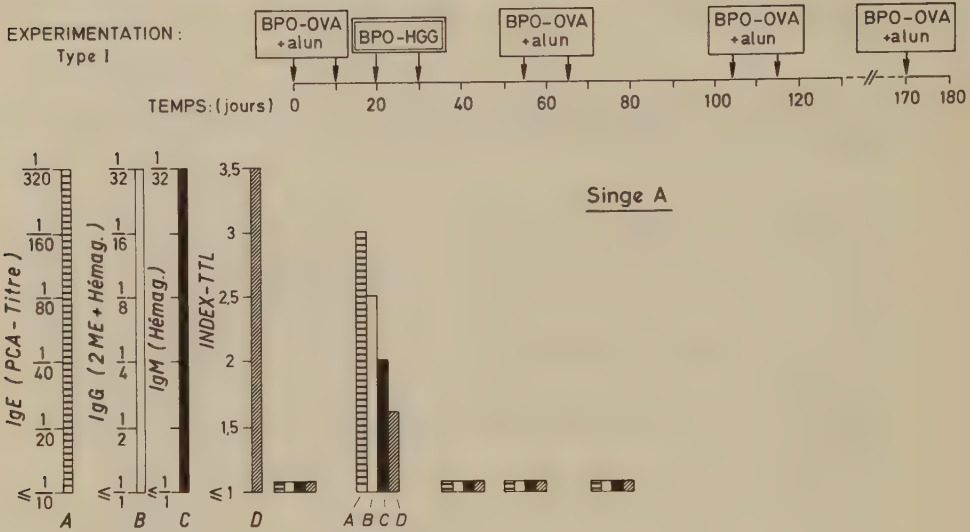


Figure 14: Réponse immune globale (INDEX-TTL) et taux des anticorps IgE, IgG, IgM dirigés contre la PENICILLINE (Haptène) au cours de l'expérimentation faite sur le singe (selon le type I)

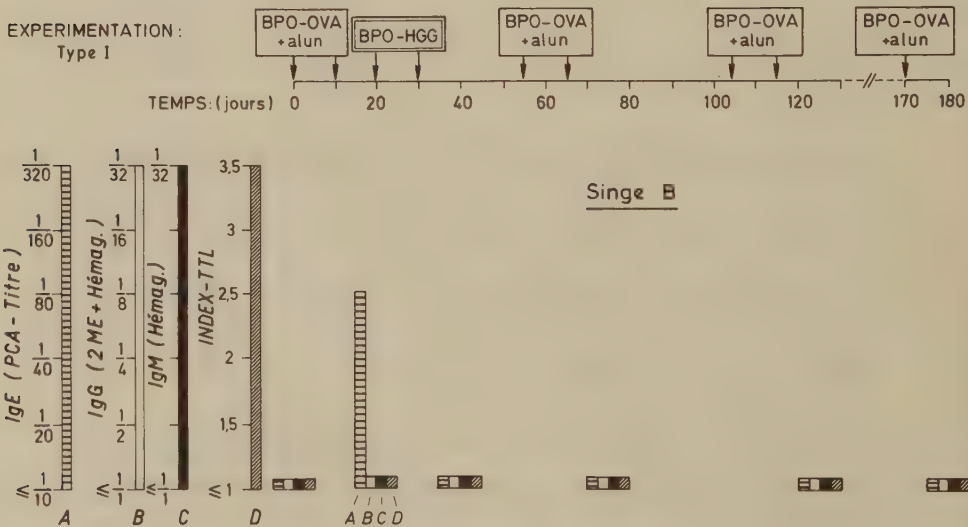


Figure 15: Réponse immune globale (INDEX-TTL) et taux des anticorps IgE, IgG, IgM dirigés contre la PENICILLINE (Haptène) au cours de l'expérimentation faite sur le singe (selon le type I)

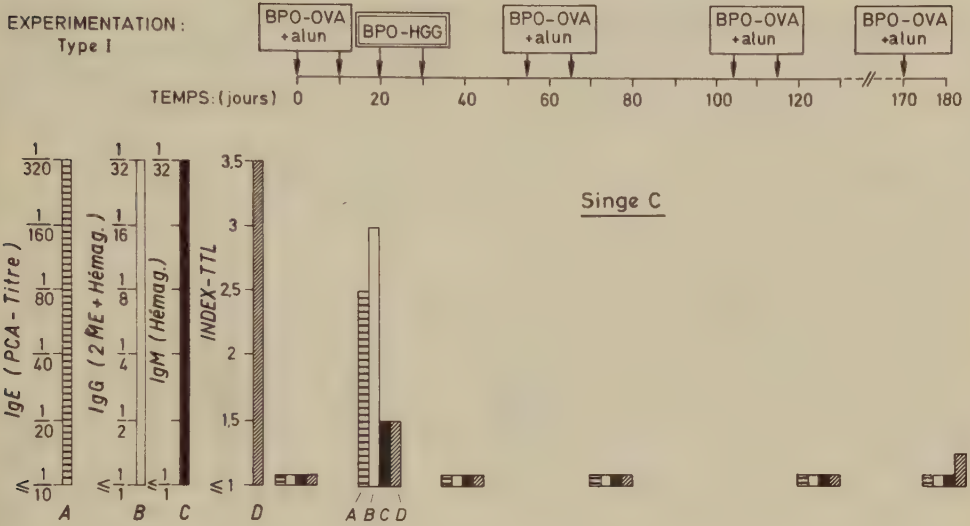


Figure 16: Réponse immune globale (INDEX-TTL) et taux des anticorps IgE (PCA-TITRE) dirigés contre la protéine porteuse (ovalbumine) au cours de l'expérimentation faite sur le singe avec la PENICILLINE

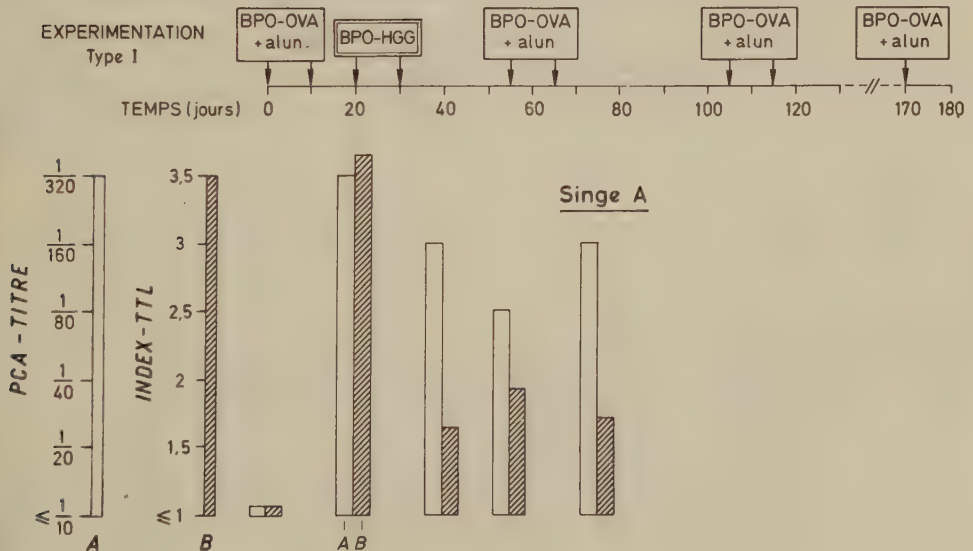


Figure 17: Réponse immune globale (INDEX-TTL) et taux des anticorps IgE (PCA-TITRE) dirigés contre la protéine porteuse (ovalbumine) au cours de l'expérimentation faite sur le singe avec la PENICILLINE

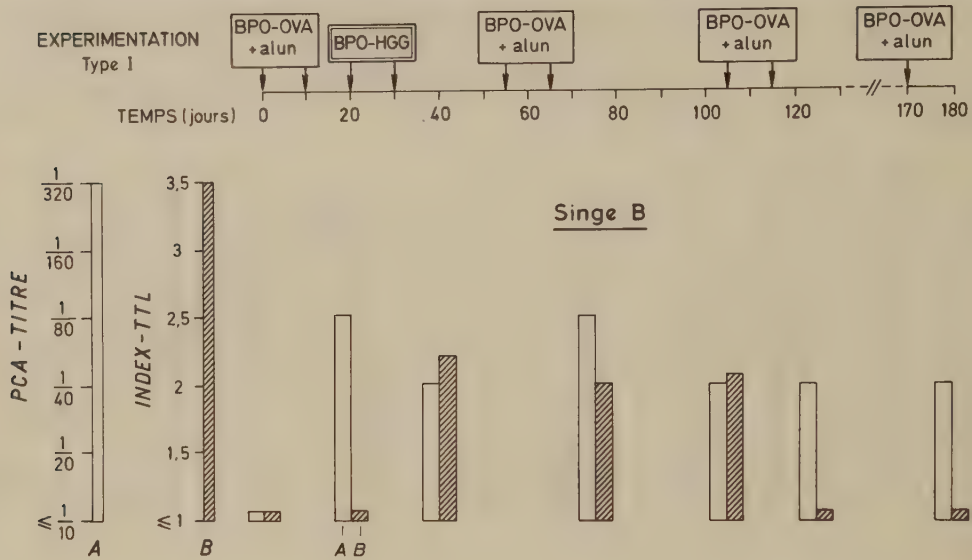
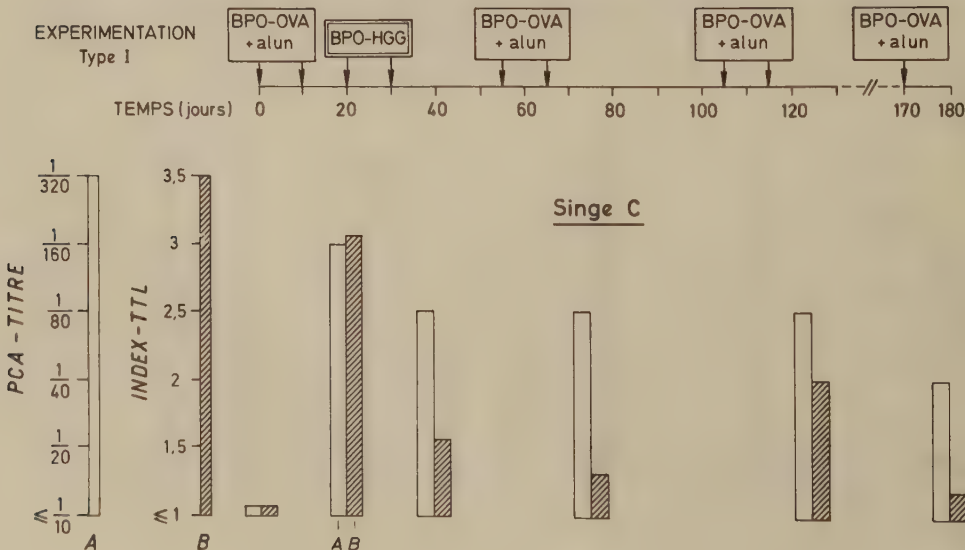


Figure 18: Réponse immune globale (INDEX-TTL) et taux des anticorps IgE (PCA-TITRE) dirigés contre la protéine porteuse (ovalbumine) au cours de l'expérimentation faite sur le singe avec la PENICILLINE



B. Suppression de la réponse immune envers la Pénicilline après administration du conjugué tolérogène BPO₁₂-HGG.

1. Expérimentation de type I (fig. 9)

Les trois singes (A, B, C) sensibilisés à BPO₄-OVA, reçoivent dans un second temps deux injections sous-cutanées, à dix jours d'intervalle, du conjugué tolérogène BPO₁₂-HGG (30 mg). Les figures 13, 14 et 15 montrent que chez les trois singes, la réponse immune globale (TTL) et le taux des trois classes d'anticorps (IgE, IgG, IgM) dirigés contre la Pénicilline tombent à zéro ; cette négativité des tests persistera malgré les tentatives ultérieures de ressensibilisation au conjugué BPO₄-OVA.

2. Expérimentation de type II (fig. 10)

Les deux singes D et E n'ont pas été sensibilisés par le conjugué (BPO₄-OVA) mais ont reçu d'emblée deux injections sous-cutanées, à 10 jours d'intervalle, de 30 mg du composé tolérogène BPO₁₂-HGG. On constate au cours des premiers tests qu'aucune sensibilisation à la Pénicilline n'a été induite ; par ailleurs, les deux singes ainsi traités sont devenus incapables de développer une réponse immune envers la Pénicilline lors des tentatives ultérieures de sensibilisation au conjugué BPO₄-OVA (fig. 19 et 20 ; tableaux D et E).

3. Etablissement d'une réponse immune contre la protéine porteuse malgré l'administration du tolérogène.

Aussi bien pour le type I d'expérimentation (fig. 16, 17 et 18) que pour le type II (fig. 21 et 22) se produit une réponse immune globale (TTL), et particulièrement une

Figure 19: Réponse immune globale (INDEX-TTL) et taux des anticorps IgE, IgG, IgM dirigés contre la PENICILLINE (Haptène) au cours de l'expérimentation faite sur le singe (selon le type II)

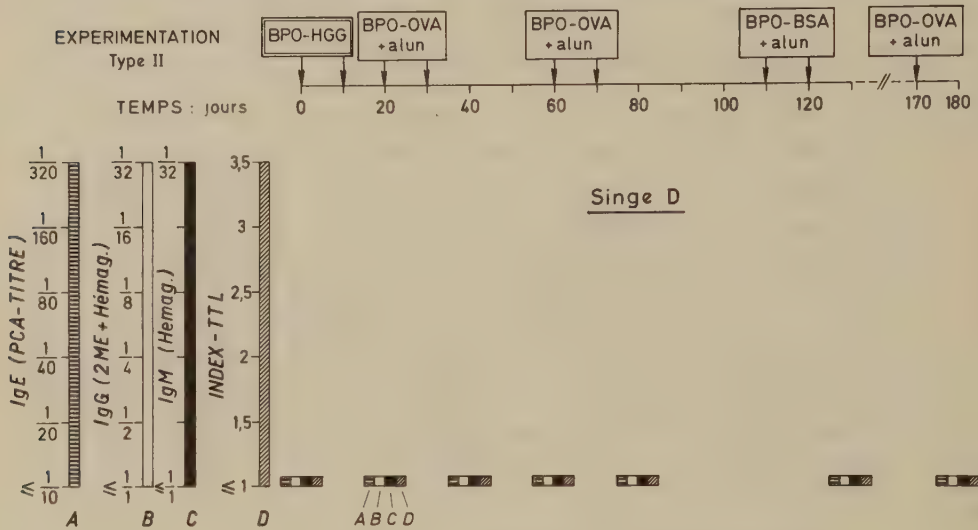


Figure 20: Réponse immune globale (INDEX-TTL) et taux des anticorps IgE, IgG, IgM dirigés contre la PENICILLINE (Haptène) au cours de l'expérimentation faite sur le singe (selon le type II)

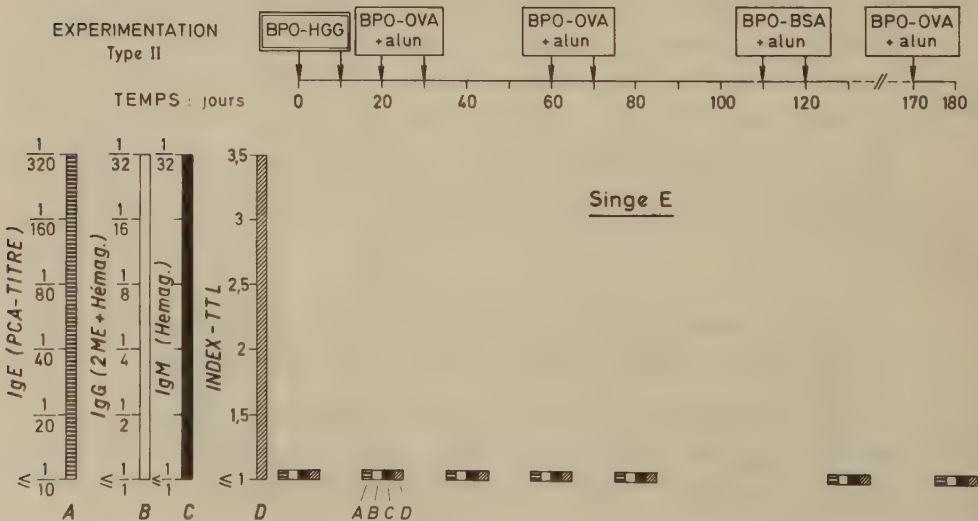


Figure 21: Réponse immune globale (INDEX-TTL) et taux des anticorps IgE (PCA-TITRE) dirigés contre la protéine porteuse (ovalbumine) au cours de l'expérimentation faite sur le singe avec la PENICILLINE.

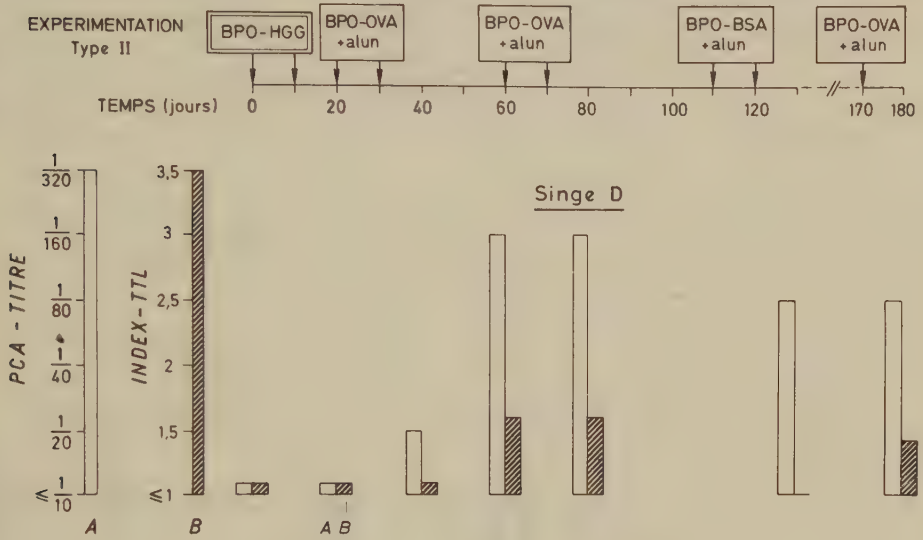


Figure 22: Réponse immune globale (INDEX-TTL) et taux des anticorps IgE (PCA-TITRE) dirigés contre la protéine porteuse (ovalbumine) au cours de l'expérimentation faite sur le singe avec la PENICILLINE.

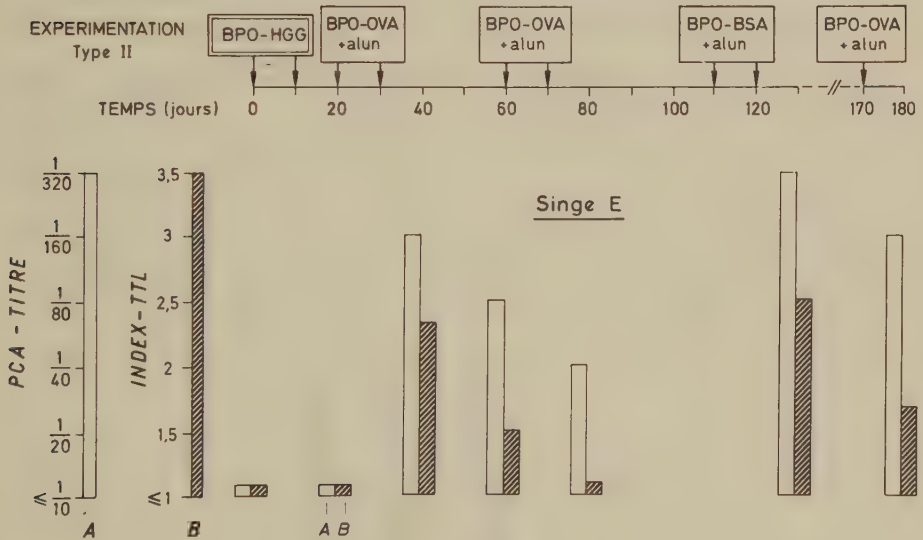


Figure 23 : Réponse immune globale (INDEX-TTL) dirigée contre la protéine porteuse tolérrogène (Gamma-Globuline Humaine) au cours de l'expérimentation du type I faite sur le singe avec la PENICILLINE.

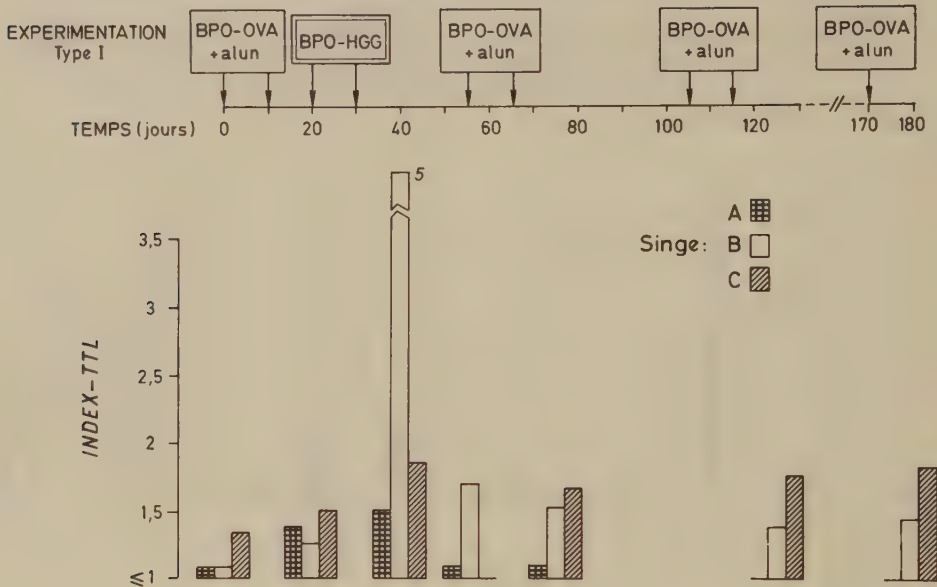
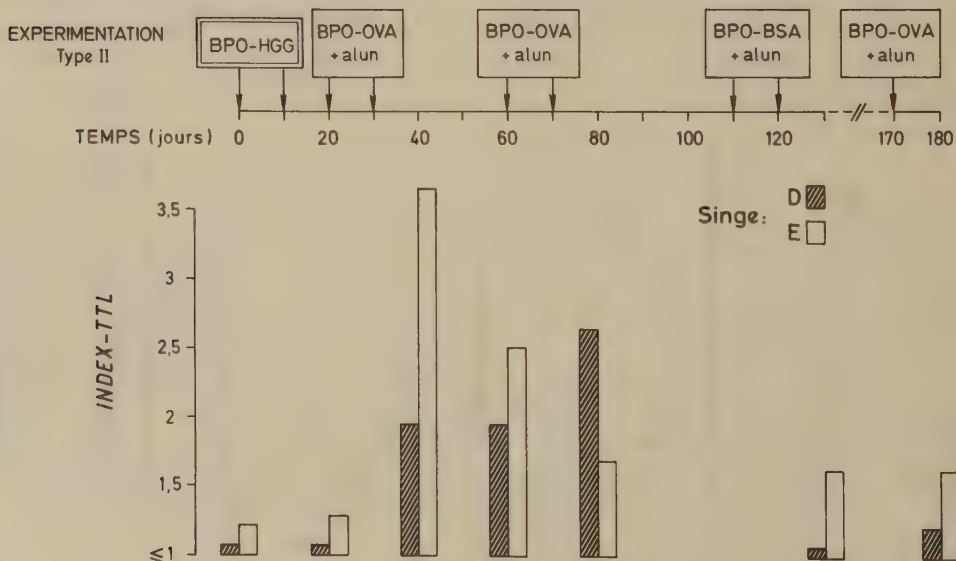


Figure 24 : Réponse immune globale (INDEX-TTL) dirigée contre la protéine porteuse tolérrogène (Gamma-Globuline Humaine) au cours de l'expérimentation du type II faite sur le singe avec la PENICILLINE.



synthèse d'anticorps IgE, dirigée contre la protéine porteuse (ovalbumine). Cette réponse est donc indépendante du traitement par le tolérogène.

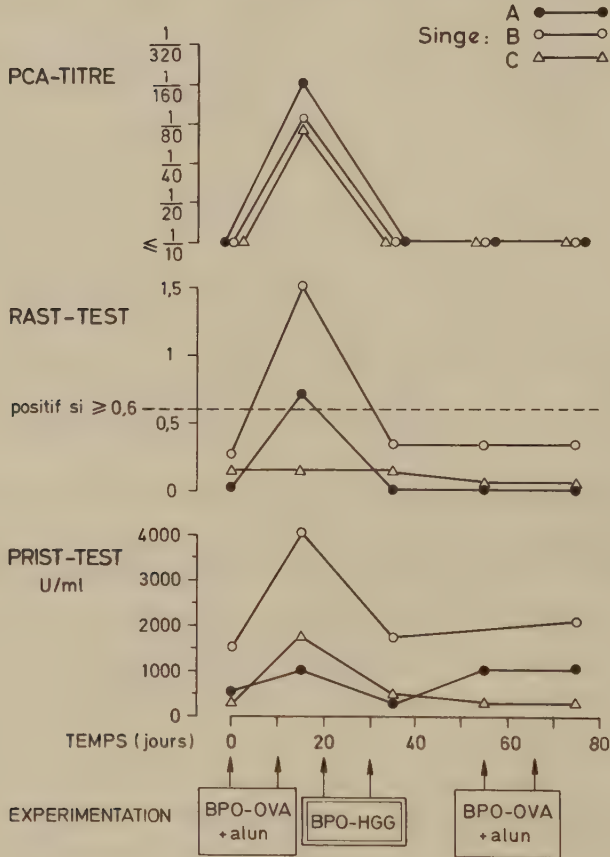
4. Durée de l'effet tolérogène

Les 5 singes ont reçu a un moment dicté par le type d'expérimentation deux injections de tolérogène (BPO_{12} -HGG). Dès cet instant, ils ont subi coup sur coup deux tentatives de sensibilisation au conjugué BPO_4 -OVA, sans succès. Six mois plus tard, après un nouveau rappel (BPO_4 -OVA), on constate que la tolérance envers l'haptène est toujours présente (fig. 14, 15, 19 et 20). Les deux singes D et E ont reçu au milieu de l'expérimentation une double injection du composé (BPO_4 -BSA) en vue de réaliser une rupture de tolérance par un composé au carrier différent ; la tolérance fut maintenue malgré tout (fig. 19 et 20).

5. Développement d'une réponse immune envers la protéine porteuse tolérogène (HGG)

Le carrier du composé tolérogène utilisé dans ce travail était une gamma-globuline humaine (HGG). Malgré la grande similitude des protéines humaines et simiesques, une réponse immune se produisit contre la HGG, sans toutefois empêcher l'établissement de la tolérance chez les 5 singes (fig. 23, 24). L'intensité de la réponse immune globale (TTL) envers l'HGG est la plus forte immédiatement après la double injection du tolérogène ; elle s'atténue ultérieurement chez tous les singes et disparaît même chez les singes A et D.

Figure 25 : Comparaison entre les tests de l'anaphylaxie cutanée passive (PCA), le Rast-test et le Prist-test pour le diagnostic d'allergie à la PENICILLINE.



5. Comparaison entre les différents tests pour la détermination de la réponse immune globale et du taux des anticorps IgE dirigés contre la Pénicilline.

Seuls les singes A, B et C ont été sensibilisés à la Pénicilline avant de recevoir le tolérogène. Parmi la batterie des tests permettant le diagnostic global de la sensibilisation à la Pénicilline, on constate que le maximum de fiabilité revient à l'Anaphylaxie cutanée passive (PCA) ; l'héماغلuttination et le TTL se sont avérés négatifs chez le singe B (fig. 14). Aucun de ces tests n'a donné de faux positif.

En ce qui concerne les trois tests s'adressant au dosage des IgE : la PCA, le RAST-test pénicilline et le PRIST-test, on peut relever, bien que le collectif soit statistiquement nettement insuffisant, que la PCA reste le test le plus fiable, avec 100% de positivité ; le RAST-test s'est avéré faillible une fois sur trois.

Quant au PRIST-test, dosant les IgE non spécifiques, il est d'une interprétation difficile vu que les singes sont fréquemment porteurs de parasites, entraînant une élévation des IgE que nous ne pouvons dissocier des IgE anti-pénicilline (fig. 25).

X . RESULTATS DE L'EXPERIENCE CONCERNANT LA PHENYLBUTAZONE
CHEZ LES SOURIS (tableau S)

A. Immunisation envers la Phénylbutazone et l'albumine bovine
grâce au conjugué PhB_{2,5}-BSA

8 souris blanches, du type suisse, numérotées de 1 à 8, ont reçu aux jours 0 et 10, une injection intra-péritoné-

ale de 10 ug de Phénylbutazone-Albumine bovine (PhB_{2,5}-BSA) mélangé à 1 000 ug d'alun. Au jour 20, les 4 premières étaient sacrifiées et l'anaphylaxie cutanée passive (PCA) nous confirmait qu'une bonne réponse immune avait été induite contre la Phénylbutazone ainsi que contre l'Albumine bovine.

B. Suppression de la réponse immune envers la Phénylbutazone après administration du conjugué tolérogène PhB_{2,5}-MGG

Les 4 souris restantes (5 - 8) sensibilisées à PhB_{2,5}-BSA reçurent au jour 30 une injection intra-péritonéale du conjugué tolérogène Phénylbutazone-Gamma-globuline de souris (PhB-MGG). Elles étaient sacrifiées à leur tour au jour 40 et la PCA nous confirmait que la réponse immune envers la Phénylbutazone avait été abolie, mais qu'elle persistait contre l'Albumine bovine.

XI . RESULTATS DE L'EXPERIENCE CONCERNANT LA PHENYLBUTAZONE CHEZ LES SINGES

A. Immunisation envers la Phénylbutazone et l'Albumine bovine grâce au conjugué PhB_{2,5}-BSA

Les singes F et G de type cercopithecus etiops, ont reçu aux jours 0 et 10 une injection sous-cutanée de 3 mg de Phénylbutazone-Albumine bovine (PhB_{2,5}-BSA) mélangé à 100 mg d'alun. Au jour 20, les examens de laboratoire nous confirmaient qu'une bonne réponse immune avait été induite contre la Phénylbutazone ainsi que contre l'ovalbumine (tableaux F et G).

1. Anticorps dirigés contre la Phénylbutazone (l'haptène)

Comme le résument les figures 26, 27, la réponse immune globale (TTL), le taux des IgE ainsi que des IgG et IgM anti-phénylbutazone ont été significatifs pour les deux singes.

2. Anticorps dirigés contre l'albumine bovine (le carrier)

Les figures 28 et 29 montrent que les deux singes ont développé une réponse immune globale (TTL) envers la protéine porteuse. La réponse en IgE contre l'albumine bovine est positive pour les deux singes dès le premier contrôle après la sensibilisation.

B. Suppression de la réponse immune envers la Phénylbutazone après administration du conjugué tolérogène PhB_{2,5}-HGG

1. Expérimentation de type I (figure 11)

Les singes F et G, sensibilisés à PhB_{2,5}-BSA reçurent dans un second temps deux injections sous-cutanées, à dix jours d'intervalle, du conjugué tolérogène PhB_{2,5}-HGG (30 mg). Les figures 26 et 27 montrent que chez les deux singes, la réponse immune globale (TTL) et le taux des anticorps IgE, IgG et IgM dirigés contre la Phénylbutazone tombent à zéro ; cette négativité des tests persistera malgré la tentative ultérieure de ressensibilisation au conjugué PhB_{2,5}-BSA.

Figure 26 : Réponse immune globale (Index-TTL) et taux des anticorps IgE, IgG (+M) dirigés contre la PHENYLBUTAZONE au cours de l'expérimentation du type I faite chez le singe.

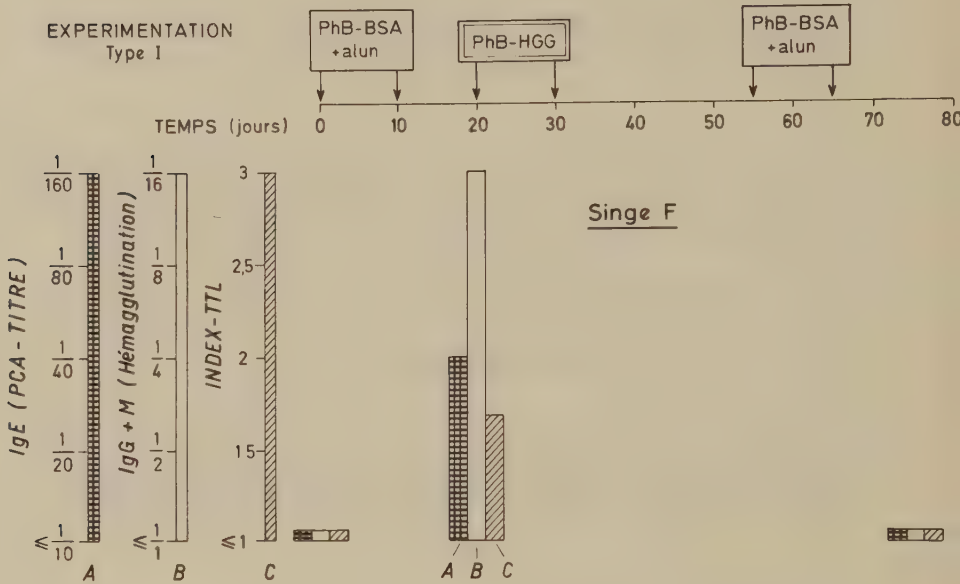


Figure 27 : Réponse immune globale (Index-TTL) et taux des anticorps IgE, IgG (+M) dirigés contre la PHENYLBUTAZONE au cours de l'expérimentation du type I faite chez le singe.

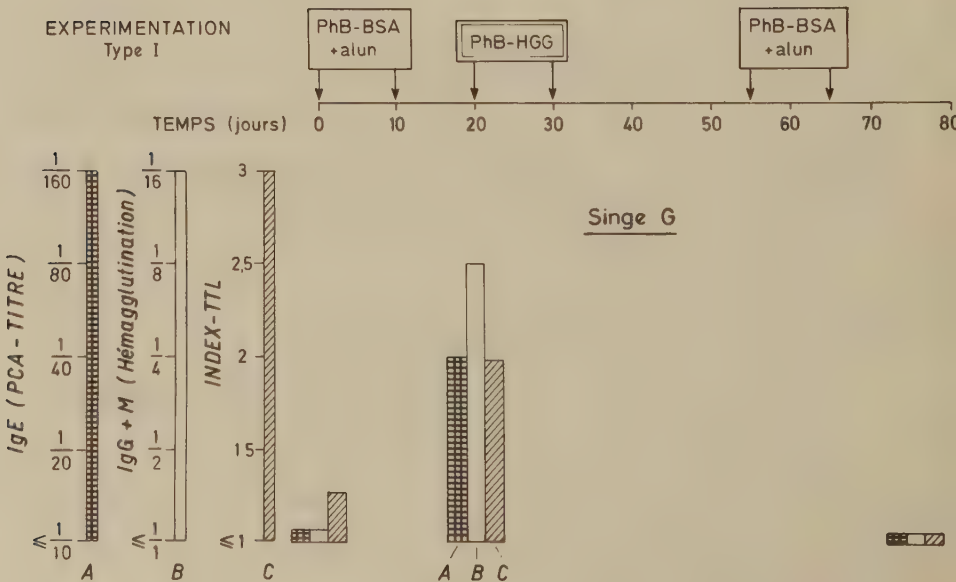


Figure 28: Réponse immune globale (Index-TTL) et taux des anticorps IgE (PCA-Titre) dirigés contre la protéine porteuse (albumine bovine=BSA) au cours de l'expérimentation du type I faite chez le singe et concernant la PHENYLBUTAZONE.

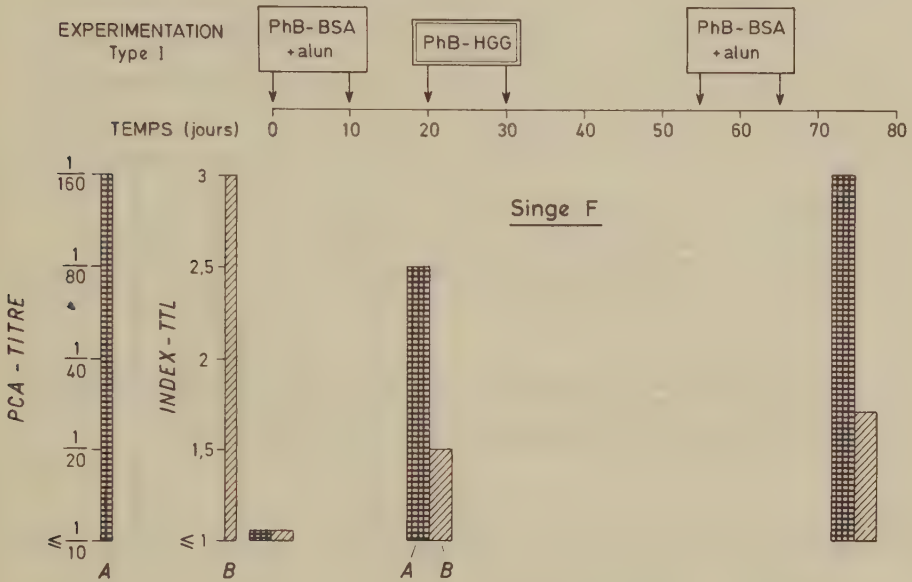
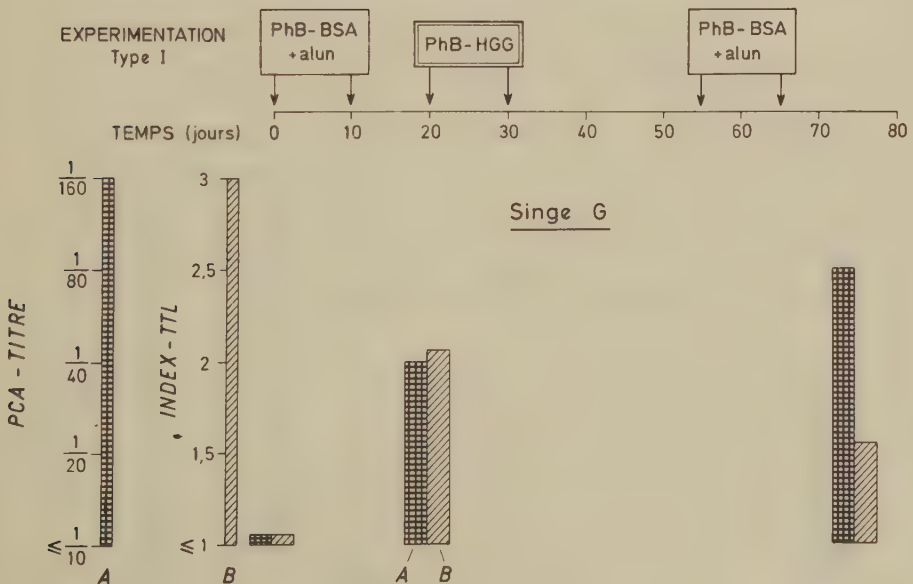


Figure 29: Réponse immune globale (Index-TTL) et taux des anticorps IgE (PCA-Titre) dirigés contre la protéine porteuse (albumine bovine=BSA) au cours de l'expérimentation du type I faite chez le singe et concernant la PHENYLBUTAZONE.



2. Expérimentation de type II (figure 12)

Le singe H n'a pas été sensibilisé par le conjugué $\text{PhB}_{2,5}$ -BSA mais a reçu d'emblée deux injections sous-cutanée, à 10 jours d'intervalle, de 30 mg du composé tolérogène $\text{PhB}_{2,5}$ -HGG. On constate qu'aucune sensibilisation à la Phénylbutazone n'a été induite par ce composé ; par ailleurs, le singe ainsi traité est devenu incapable de développer une réponse immune envers la Phénylbutazone lors de la tentative ultérieure de sensibilisation au conjugué immunogène $\text{PhB}_{2,5}$ -BSA. (fig.30).

C. Etablissement d'une réponse immune contre la protéine porteuse malgré l'administration du tolérogène.

Aussi bien pour le type I d'expérimentation à la Phénylbutazone (fig. 28, 29) que pour le type II (fig.31) se produit une réponse immune globale (TTL), et particulièrement une synthèse d'anticorps IgE, dirigée contre la protéine porteuse (albumine bovine). Cette réponse est donc indépendante du traitement par le tolérogène.

D. Durée de l'effet tolérogène.

Les trois singes ont reçu à un moment dicté par le type d'expérimentation deux injections de tolérogène $\text{PhB}_{2,5}$ -HGG. Ils ont subi par la suite une tentative de sensibilisation au conjugué $\text{PhB}_{2,5}$ -BSA, sans succès. L'état de tolérance était donc acquis.

Figure 30 : Réponse immune globale (Index-TTL) et taux des anticorps IgE, IgG (+M) dirigés contre la PHENYLBUTAZONE au cours de l'expérimentation du type II chez le singe H

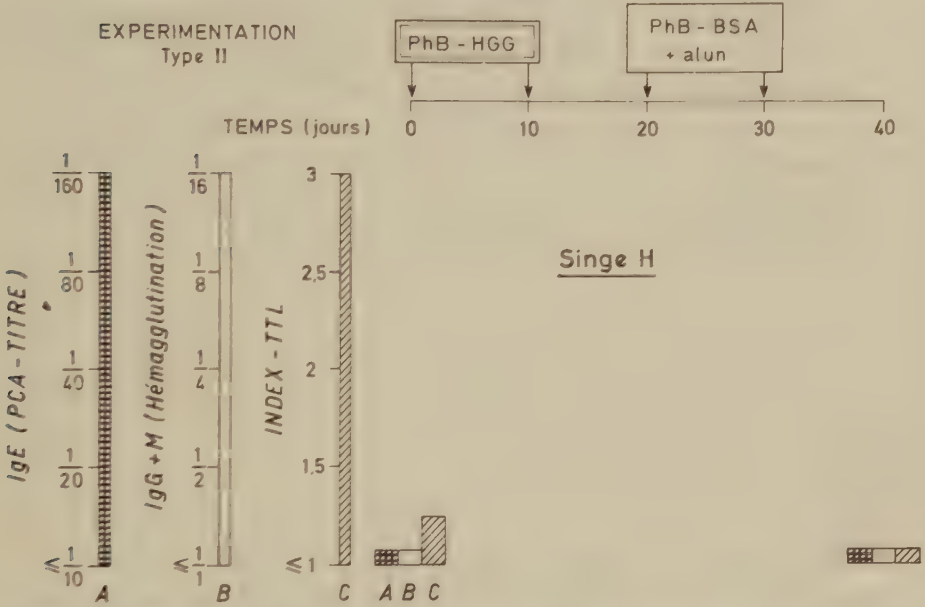
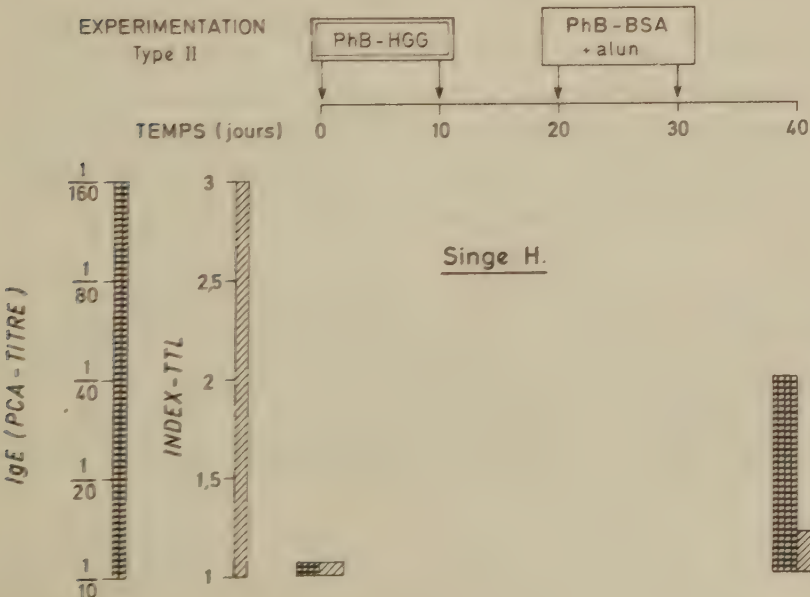


Figure 31 Réponse immune globale (Index-TTL) et taux des anticorps IgE dirigés contre la protéine porteuse (Albumine bovine = BSA) au cours de l'expérimentation de type II faite chez le singe H concernant la PHENYLBUTAZONE



E. Développement d'une réponse immune envers la protéine porteuse tolérogène (HGG).

Le carrier du composé tolérogène utilisé dans ce travail était une gamma-globuline humaine (HGG). Comme avec l'expérience concernant la pénicilline, mais chez deux des trois singes seulement, une réponse immune se produisit contre la HGG, sans toutefois empêcher l'établissement de la tolérance (fig. 32). Le singe H n'a pas montré cette particularité (fig. 33).

XII . CONCLUSIONS

Conformément aux études antérieures (47 ; 66), on peut constater que le composé immunogène $\text{BPO}_4\text{-OVA}$ entraîne une réponse immune à la fois contre la protéine porteuse (ovalbumine) ainsi que contre l'haptène (le radical benzyl pénicilloyl : BPO). Toutefois la réponse la plus nette s'est faite à l'égard de la protéine porteuse. L'administration simultanée de l'alun (Al(OH)_3) a, comme prévu, permis d'obtenir une réponse aussi bien en anticorps IgG, IgM qu'en IgE. Nous en concluons donc que les critères de sensibilisation, appliqués jusqu'alors aux petits animaux de laboratoire, le sont aussi pour les primates.

Afin de reproduire exactement le protocole expérimental effectué chez la souris par LEE et SEHON (66) et conformément aux travaux expérimentaux de NAOR et MISHELL (61) nous avons utilisé le conjugué tolérogène en quantité 10 fois supérieure au conjugué immunogène. Tant dans le type

Figure 32 : Réponse immune globale (Index-TTL) dirigée contre la protéine porteuse tolérigène (Gamma-globuline humaine = HGG) au cours de l'expérimentation de type I faite chez les singes F et G concernant la PHENYLBUTAZONE.

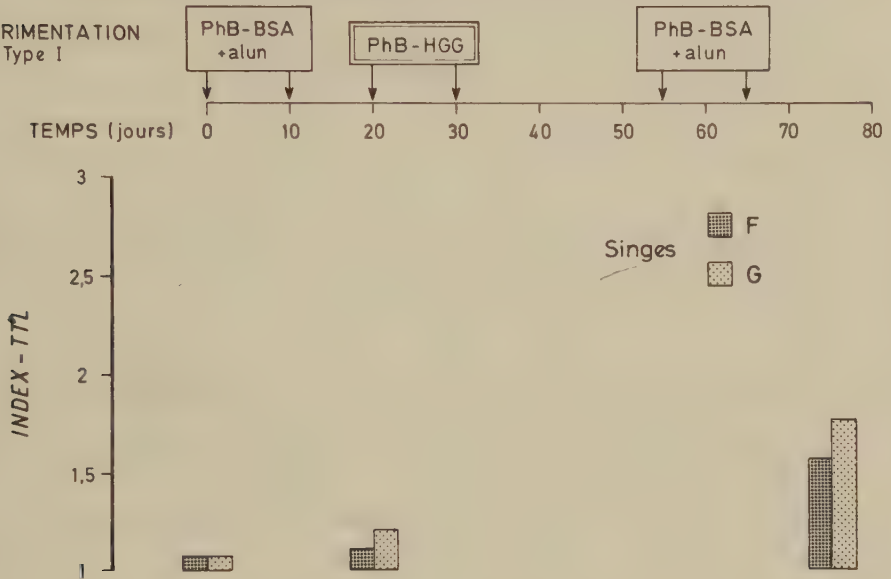
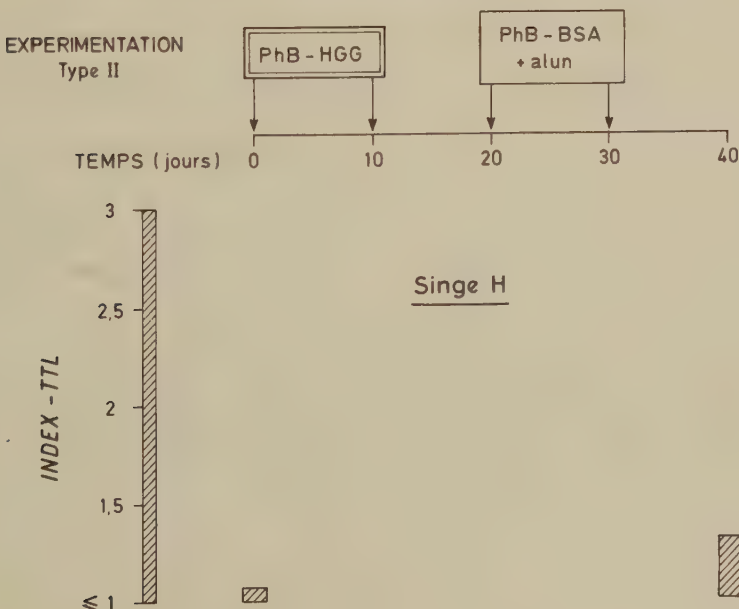


Figure 33 : Réponse immune globale (Index-TTL) dirigée contre la protéine porteuse tolérigène (Gamma-globuline humaine = HGG) au cours de l'expérimentation du type II faite chez le singe H concernant la PHENYLBUTAZONE.



expérimental I (fig. 9) que dans le type II (fig. 10), on a pu confirmer que le conjugué tolérogène entraînait une abolition complète de la réponse immune envers l'haptène (BPO) tout en conservant une réponse immune normale à l'égard de la protéine porteuse (ovalbumine).

L'effet de tolérance apparaît immédiatement après l'injection du composé tolérogène et persiste, sans injection de rappel, pendant au moins six mois et ceci malgré plusieurs tentatives de resensibilisation par le conjugué immunogène BPO₄-OVA. Chez deux singes désensibilisés, une tentative de rupture de tolérance par le conjugué BPO-BSA n'a pas abouti, confirmant que l'effet tolérogène est spécifique de l'haptène. En effet, nous avons pu montré qu'il était possible de sensibiliser, puis de désensibiliser à la phénylbutazone le singe F qui avait été rendu tolérant à la pénicilline 3 mois auparavant sous l'appellation de singe C.

Tous les singes ont présenté une intense réponse immune envers la protéine porteuse du conjugué tolérogène, la gamma-globuline humaine (HGG). Dans toute la littérature, il est admis que l'effet tolérogène est dû à un blocage des sites récepteurs des T-lymphocytes par fixation de l'immunoglobuline porteuse de l'haptène, entraînant ainsi une inhibition du métabolisme intra-lymphocytaire ; or, si, comme nous le rapporte notre expérimentation, une réponse immune est possible envers le carrier du composé tolérogène, il faut penser que les T-lymphocytes fixant ce conjugué, ne sont pas complètement inhibés, mais que l'effet de tolérance est dû à un blocage situé à un autre niveau : soit que l'haptène, une fois lié à une gamma-globuline, perd ses propriétés allergisantes par modification de sa stéréochimie, soit que, comme l'ont supposé FELDMAN et DIENER (77), il y ait bien production d'anticorps anti-tolérogène mais que

l'effet de tolérance soit imputable à la formation de complexes circulants. Les gamma-globulines humaines et simiesques ne diffèrent que par quelques sites antigéniques situés dans la partie "appelée variable" de la protéine ; il est probable que les anticorps produits par les T-lymphocytes ne perturbent pas la tolérance à l'haptène, car ils sont dirigés contre une partie de l'immunoglobuline qui n'entre pas en considération pour l'effet tolérogène. Le problème reste toutefois entier et il faudra attendre les confirmations de travaux expérimentaux ultérieurs pour pouvoir se prononcer.

Le collectif de 5 singes est trop petit pour pouvoir tirer des conclusions statistiques de cette expérimentation. Il est toutefois intéressant de constater que, en ce qui concerne les tests-diagnostiques, la PCA a été le test le plus fiable avec 100 % d'efficacité. Les autres tests (RAST-test, hémagglutination et TTL) ont tous failli une fois dans le sens d'un résultat faussement négatif, ce qui correspond au taux de fiabilité habituel de ces tests.

Le but premier de ce travail était de confirmer que les propriétés des conjugués tolérogènes, connues jusqu'alors dans les expérimentations sur des petits animaux de laboratoire, étaient reproductibles chez les primates, ceci dans le but de l'appliquer dans un bref délai à l'homme. Comme le montrent les résultats, la similitude est totale entre les précédents travaux et ceux relatés ici.

Le second objectif de ce travail était d'appliquer à un autre médicament les expériences effectuées pour la Pénicilline chez le singe. Nous avons choisi la phénylbutazone en raison du nombre important des réactions allergiques

envers ce médicament. Bien que l'expérimentation ait été plus simple, les résultats montrent, sans aucun doute qu'il est possible de sensibiliser le singe par le composé $\text{PhB}_{2,5}$ -BSA puis de le rendre tolérant à la phénylbutazone grâce à l'administration du conjugué $\text{PhB}_{2,5}$ -HGG. Comme pour l'expérimentation avec la Pénicilline, l'on voit que la réponse immune envers la protéine porteuse persiste malgré la disparition de la réponse immune envers la phénylbutazone ; on constate aussi, une réponse immune envers la protéine porteuse du tolérogène (HGG).

Il n'est pas interdit de penser que ce procédé rendant le singe tolérant par l'administration d'un conjugué haptène-gammaglobuline, soit reproductible pour toutes les allergies médicamenteuses ; on peut avoir aussi le très grand espoir de voir un jour les maladies dites auto-immunes, trouver une thérapeutique efficace dans ce procédé, comme tentent actuellement de le prouver BOREL et coll.

TABLEAU A : RESULTATS DE L'EXPERIMENTATION (type I) DE DESENSIBILISATION FAITE CHEZ LE SINGE A.

Expérimentation.....	BPO-OVA + alun	BPO-HGG	BPO-OVA + alun	BPO-OVA + alun	BPO-OVA + alun	BPO-OVA + alun	BPO-OVA + alun
Jours	0 10 20 30 40 55 65 75 105 115 125 170 1	0 10 20 30 40 55 65 75 105 115 125 170 1	0 10 20 30 40 55 65 75 105 115 125 170 1	0 10 20 30 40 55 65 75 105 115 125 170 1	0 10 20 30 40 55 65 75 105 115 125 170 1	0 10 20 30 40 55 65 75 105 115 125 170 1	0 10 20 30 40 55 65 75 105 115 125 170 1
Pénicilline	381	1200	128	80	100		
Ovalbumine	260	3240	197	166	182		
TTL ^{*3} HGG ^{*1}	487	1040	175	109	150		
Contrôle	490	730	120	90	110		
PHA ^{*2}	7.331	10110	10.170	6.240	5.280		
Hémagglutination (IgG + M)	-	+ $\frac{1}{32}$	-	-	-		
2ME ^{*4} + Hémagglutination (IgG)	-	+ $\frac{1}{8}$	-	-	-		
PRIST-Test (IgE non-spécif.)	500	1000	250	1000	1000		
RAST-Test (IgE anti-pénicilloyl)	-	+	-	-	-		
PCA ^{*5} anti-pénicilline	-	+ $\frac{1}{160}$	-	-	-		
PCA anti-ovalbumine	-	+ $\frac{1}{320}$	+ $\frac{1}{160}$	+ $\frac{1}{80}$	+ $\frac{1}{160}$		

Abbreviations: *1 :Gamma-Globuline Humaine

*2 :Test de Transformation Lymphoblastique

*3 :Phytohémagglutinine

*4 : 2 Mercapto-Ethanol

*5 : Passive Cutaneous Anaphylaxi

TABLEAU B : RESULTATS DE L'EXPERIMENTATION (type I) DE DESENSIBILISATION FAITE CHEZ LE SINGE B .

Expérimentation.....	BPO-OVA + alun										BPO-HGG										BPO-OVA + alun										BPO-OVA + alun												
	0	10	20	30	40	55	65	75	105	115	125	170	180																														
Jours	0	10	20	30	40	55	65	75	105	115	125	170	180																														
Pénicilline	625		410		353			922	664		963		841																														
Ovalbumine	822		578		713			2177	1528		914		1018																														
TTL ^{*3} HGG ^{*1}	560		723		1582			1777	1028		1661		1512																														
Contrôle	670		567		309			1071	690		1130		937																														
PHA ^{*2}	10721		3015		13105			7996	19350		13336		9931																														
Hemagglutination (IgG + M).....	-		-		-			-	-		-		-																														
2ME ^{*4} + Hémagglutination (IgG)....	-		-		-			-	-		-		-																														
PRIST-Test (IgE non-spécif.).....	1400		4000		1600			2200	1800		3000		1800																														
RAST-Test (IgE anti-pénicilloyl):	-		+++		-			-	-		-		-																														
PCA ^{*5} anti-pénicilline	-		+ $\frac{1}{80}$		-			-	-		-		-																														
PCA anti-ovalbumine	-		+ $\frac{1}{80}$		+ $\frac{1}{40}$			+ $\frac{1}{80}$	+ $\frac{1}{40}$		+ $\frac{1}{40}$		+ $\frac{1}{40}$																														

Abréviations : *1 : Gamma-Globuline Humaine

*2 : Test de Transformation Lymphoblastique

*3 : Phytohemagglutinine

*4 : 2 Mercapto-Ethanol

*5 : Passive Cutaneous Anaphylaxi

TABLEAU C : RÉSULTATS DE L'EXPERIMENTATION (type I) DE DESENSIBILISATION FAITE CHEZ LE SINGE C.

Expérimentation.....	BPO-OVA + alun										BPO-HGG										BPO-OVA + alun										BPO-OVA + alun												
	0	10	20	30	40	55	65	75	105	115	125	170	180																														
Jours	0	10	20	30	40	55	65	75	105	115	125	170	180																														
{ Pénicilline Ovalbumine HGG* ¹ TTTL* ³ Contrôle PHA* ² }	1077		185		1459			584			237		622																														
	1147		352		1929			827			491		515																														
	1490		100		2180			1056			489		784																														
	1056		113		1267			675			250		436																														
	16161		12442		13442			55161			11372		19630																														
Hemagglutination (IgG + M).....	-		+ $\frac{1}{16}$		-			-			-		+ $\frac{1}{4}$																														
2WE* ⁴ + Hémagglutination (IgG)....	-		+ $\frac{1}{8}$		-			-			-		-																														
PRIST-Test (IgE non-spécif.).....	400		1650		1200			800			1000		400																														
RAST-Test (IgE anti-pénicilloyl):	-		-		-			-			-		-																														
PCA* ⁵ anti-pénicilline	-		+ $\frac{1}{80}$		-			-			-		-																														
PCA anti-ovalbumine	-		+ $\frac{1}{160}$		+ $\frac{1}{80}$			+ $\frac{1}{80}$			+ $\frac{1}{80}$		+ $\frac{1}{40}$																														

Abbreviations : *1 : Gamma-Globuline Humaine

*2 : Test de Transformation Lymphoblastique

*3 : Phytohemagglutinine

*4 : 2 Mercapto-Ethanol

*5 : Passive Cutaneous Anaphylaxis

TABLEAU D : RESULTATS DE L'EXPERIMENTATION (type II) DE DESENSIBILISATION FAITE CHEZ LE SINGE D .

Expérimentation.....	BPO-HGG		BPO-OVA + alun		BPO-OVA + alun		BPO-OVA + alun		BPO-BSA + alun		BPO-OVA + alun		
Jours	0	10	20	30	40	60	70	80	110	120	130	170	180
Pénicilline.....	880		7503	3174	401			1077			422		692
Ovalbumine	180		5383	2783	682			1976	(TTL: BSA 841)/				1012
HGG *1.....	655		4718	4707	780			2873			677		803
Contrôle	842		7680	2511	461			1191			586		689
PHA *2.....	12131		13053	13785	8842			71139			19971		15954
Hemagglutination (IgG + M).....	-		-	-	-			-			-		-
2NE *4 + Hémagglutination (IgG)....	-		-	-	-			-			-		-
PRIST-Test (IgE non-spécif.).....	320		360	80	35			95			320		180
RAST-Test (IgE anti-pénicilloyl):	-		-	-	-			-			-		-
PCA *5 anti-pénicilline	-		-	-	-			-			-		-
PCA anti-ovalbumine	-		-	+ $\frac{1}{20}$	+ $\frac{1}{160}$			+ $\frac{1}{160}$			+ $\frac{1}{80}$		+ $\frac{1}{80}$

Abbréviations: *1 : Gamma-Globuline Humaine

*4 : 2 Mercapto-Ethanol

*2 : Test de Transformation Lymphoblastique

*5 : Passive Cutaneous Anaphylaxis

*3 : Phytohemagglutinine

TABLEAU E : RÉSULTATS DE L'EXPERIMENTATION (type I) DE DESENSIBILISATION FAITE CHEZ LE SINGE E .

Expérimentation.....:	Jours												
	0	10	20	30	40	60	70	80	110	120	130	170	180
	BPO-HGG	BPO-OVA + alun			BPO-OVA + alun			BPO-BSA + alun			BPO-OVA + alun		
Pénicilline	332	1068	494	602	1116	829	590						
Ovalbumine	468	1100	1006	690	1227	1603	992						
TTL*3	422	1444	1427	1012	1660	1203	834						
Contrôle	344	1118	435	456	1138	636	518						
PHA*2	8296	17814	21763	56500	57564	40678	22015						
Hemagglutination (IgG + M).....:	-	-	-	-	-	-	-						
2ME*4 + Hémagglutination (IgG)....:	-	-	-	-	-	-	-						
PRIST-Test (IgE non-spécif.).....:	280	400	70	180	400	320	180						
RAST-Test (IgE anti-pénicilloyl):	-	-	-	-	-	-	-						
PCA*5 anti-pénicilline	-	-	-	-	-	-	-						
PCA anti-ovalbumine	-	-	-	-	-	-	-						
				</									

Abbreviations: *1 :Gamma-Globuline Humaine

*2 :Test de Transformation Lymphoblastique

*3 :Phytohemagglutinine

*4 : 2 Mercapto-Ethanol

*5 : Passive Cutaneous Anaphylaxis

TABLEAU F : RESULTATS DE L'EXPERIMENTATION (type I) DE DESENSIBILISATION

FAITE CHEZ LE SINGE F CONCERNANT LA PHENYLBUTAZONE(PhB)

Expérimentation.....:		PhB-BSA + alun		PhB-HGG		PhB-BSA + alun		
Jours		0	10	20	30	40	55	65 75
TTL*1	Phénylbutazone	219		505				301
	Albumine Bovine (BSA)....	392		478				421
	Gamma-Globuline Humaine..	117		332				499
	Contrôle	409		301				287
	Phytohemagglutinine (PHA):	9435		10212				9792
	Hémagglutination(anti-PhB).....	-		+ $\frac{1}{16}$				-
	PCA*2 anti-phénylbutazone	-		+ $\frac{1}{40}$				
	PCA anti-BSA	-		+ $\frac{1}{80}$				

TABLEAU G : RESULTATS DE L'EXPERIMENTATION (type I) DE DESENSIBILISATION

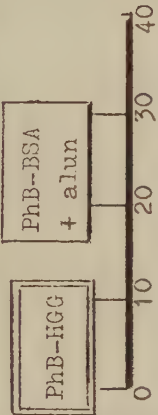
FAITE CHEZ LE SINGE G CONCERNANT LA PHENYLBUTAZONE(PhB)

Expérimentation.....:		PhB-BSA + alun		PhB-HGG		PhB-BSA + alun		
Jours		0	10	20	30	40	55	65 75
TTL*1	Phénylbutazone	167		343				421
	Albumine Bovine (BSA)....	112		378				672
	Gamma-Globuline Humaine..	172		209				784
	Contrôle	120		182				436
	Phytohemagglutinine (PHA):	11287		9983				9630
	Hémagglutination(anti-PhB).....	-		+ $\frac{1}{8}$				-
	PCA*2 anti-phénylbutazone	-		+ $\frac{1}{40}$				
	PCA anti-BSA	-		+ $\frac{1}{40}$				

Abbreviations : TTL = Test de Transformation Lymphoblastique
PCA = Passive Cutaneous Anaphylaxis

TABLEAU H : RESULTATS DE L'EXPERIMENTATION (type II) DE DESENSIBILISATION

FAITE CHEZ LE SINGE H CONCERNANT LA PHENYLBUTAZONE.

						
Expérimentation.....	Jours	0	10	20	30	40
Phénylbutazone	891					356
BSA	702					394
Gamma-Globuline Humaine...	654					472
Contrôle	773					382
PHA	12689					13304
Hémagglutination (anti-PhB)	-					-
PCA anti-PhB	-					-
PCA anti-BSA	-					+ $\frac{1}{40}$

BIBLIOGRAPHIE

1. KEEFER, C.S., BLACK, F.G., MARSHALL, E.K., Jr., LOCKWOOD, J.S. and WOOD, W.B., Jr. : Penicillin in the treatment of infections : A Report of 500 Cases. J.A.M.A. 122 : 1217 (Aug. 28) (1943).
2. VALLERY-RADOT, P., WOLFROMM, R., CHARPIN, J. et HALPERN, B.N. : "Maladies Allergiques". Editions Médicales Flammarion, p. 683. (1963).
3. CUEVAS, M et GIRARD, J.P. : Diagnostic et prévention des allergies médicamenteuses aux pénicillines.
 * Méd. et Hyg. 36 : 2538 - 2552 (1978).
4. GIRARD, J.P. and CUEVAS, M. : Analyse clinique et immunologie de 1047 réactions allergiques à la Pénicilline. Schweiz. Med. Wschr. 105 : 953 (1975).
5. ADKINSON, N.F., THOMPSON, V.L., MADDREY, V.C. and LICHTENSTEIN, L.M. : Routine use of penicillin skin testing on an inpatient service. New Engl. J. Med. 285 : 22 (1971).
6. GIRARD, J.P. : Allergic reactions to antibiotics. Helv. Med. Acta 36 : 3 (1972).
7. PARKER, C.W., SHAPIRO, J., KERN, M. and EISEN, H.M. : Hypersensitivity to penicillenic acid derivatives in human beings with penicillin allergy. J. Exp. Med. 115 : 821 (1962).
8. LEVINE, B.B. and OVARY, Z. : Studies on the mechanism of the formation of the penicillin antigen. III. The N-(D-alpha-benzyl-penicilloyl) group as an antigen determinant responsible for hypersensitivity to penicillin. G. J. Exp. Med. 114 : 875 (1961).
9. De WECK, A.L. and SCHNEIDER, C.H. : Penicillin antigens. Allergy 162 : 193 (1967).
10. De WECK, A.L. : Studies on penicillin hypersensitivity. I. The specificity of rabbit "anti-penicillin" antibody. Int. Arch. Allergy 21 : 20 (1962).

11. SCHNEIDER, C.H. : Penicillin allergy. Stewart & Mc GOVERN edit. C. C. Thomas, Springfield ill., (1970).
12. De WECK, A.L., SCHNEIDER, C.R. and GUTERSOHN J. : The role of penicilloylated protein impurities penicillin polymers and dimers in penicillin allergy. *Int. Arch. Allergy* 33 : 535 (1968).
13. NISHIDA, K., KINOSHITA, Y., ATSUMI, T., IHIBATA, T. and HORINCHI, Y. : The analysis of combining sites of rabbit anti-penicilloyl antibodies. *Immunochemistry* 9 : 1195 (1972).
14. MURAKANA, M., OKUMUSA, H., TAKEDA, K., KOIZUMI, K. and SUZUKI, S. : Populations studies on drug allergy. *Acta Allergol.* 28 : 50 (1973).
15. VOS, H.E., REDMOND, A.P. and LEVINE, B.B. : Clinical detection of the potential allergic reactor to penicillin by immunological tests. *J.A.M.A.* 196 : 679 (1966).
16. VICKERS, R.M. and ASSEM, E.S.K. : Tests for penicillin allergy in man. Carrier effect on response to penicilloyl conjugates. *Immunology* 26 : 425 (1974).
17. THIEL, J.A., MITCHELL, S. and PARKER, C.W. : The specificity of hemagglutination reactions in human and experimental penicillin hypersensitivity. *J. Allergy* 35 : 399 (1964).
18. GIRARD, J.P., VIDMAR, B et LAUGIER P. : Diagnostic des allergies médicamenteuses. Etude comparative des tests d'hémagglutination, du test de rosettes et du test de transformation lymphoblastique. *Rev. Franç. Allergie* 11 : 347 (1971).
19. HALPERN, B., KY, N.T. and AMACHE, N. : Diagnosis of drug allergy in vitro with the lymphocyte transformation test. *J. Allergy* 40 : 166 (1967).
20. KRISTOFFERSON, A., ALSTEDT, S., PETTERSON, E. and SVÄRD, O.P. : Antigens in penicillin allergy. I. A radioimmunoassay for detection of penicilloylated protein contaminants in penicillin preparations. *Int. Archs. Allergy appl. Immun.* 55 : 13 (1977).

21. WIDE, L. and JUHLIN, L. : Detection of penicillin allergy of the immediate type by radioimmunoassay of reagins (IgE) to penicilloyl conjugates. *Clinical allergy* 1 : 171 (1971).
22. BALDO, B.A. and TURNER, K.J. : The radioallergosorbent test (RAST). Its significance in clinical and experimental allergy. *Med. J. Aust.* 2 : 871 (1975).
23. WATANABE, N. and OVARY, Z. : Antigene and antibody detection by in vitro methods ; a reevaluation of passive cutaneous anaphylaxis reactions. *J. Immuno. Methods* 14 : 381 (1977).
24. FISHER, J., MIDDLETON, E. and MENZEL, A. : Study on passive cutaneous anaphylaxis with serum of allergic patients. *J. Allergy* 11 : 256 (1957).
25. GIRARD, J.P. : Diagnostic des allergies médicamenteuses. *Helv. Med. Acta* 36 : 3 (1972).
26. BENVENISTE J., EGIDO, J., MILLET, G. and CAMNSSI G. : Detection of immediate hypersensitivity in rabbits by direct basophil degranulation. *J. Allergy Clin. Immunol.* 59 : 271 (1977).
27. SOBORG, M and BEUDIXEN, G. : Human lymphocyte migration as a parameter of hypersensitivity. *Acta Med. Scand* 98 : 1655 (1968).
28. GIRARD, J.P. : Valeur du test d'inhibition de la migration des cellules lymphoïdes, in vitro, appliqué au diagnostic des allergies médicamenteuses. *Schweiz. Med. Wschr.* 98 : 1655 (1968).
29. COCHRANE, G.C., MULLER-EBERHARD, H.J. and AIKIN, B.S. : Studies on the localization of antigen-antibody complexes and other macromolecules in vessels. *J. Exp. Med.* 118 : 503 (1963).
30. AHLSTEDT, S., KRISTOFFERSON, A., PETTERSON, E. and SVARD, P.O. : The binding properties of rabbit against various penicillins as studied by immunoprecipitation, indirect haemagglutination and radiometric immunoassay. *Int. Archs. Allergy Appl. Immun.* 51 : 145 (1976).

31. BLUESTEIN, H.G., PIERCE, C.W. : Cellular requirements for developpement of primery anti-hapten antibody responses in vitro. J. Immun. 111 : 137 (1973).
32. UNANUE, E.R., BELLEN, D.I. : Regulation of immunity and inflammation by mediators for macrophages. Am. J. Pathology 85 : 465 (1976).
33. ISHIZAKA, K., ADACHI, T. : Generation of specific halper cells and suppressor cells in vitro for the IgE and IgG antibody responses. J. Immun. 117 : 40 (1976).
34. BASTEN, A., LOBLAY, R. and PRITSCHARD-BRISCOE, H. : T-cell dependent of the immune response. Progress in Immunol. III. p. 358 ; Proceedings of the third international congress of immun. Sydney, Australia (July 1977).
35. BENACERRAF, B. : Suppressor T-cells and suppressor factor. Hospital practice 65 (April 1978).
36. WALDMANN, T.A. : The role of suppressors cells in the pathogenesis of commun variable hypogammaglobulinemia and immunodeficiency associated with myeloma. Federation proceeding 35 : 9 (1976).
37. SCHIMPL, A. WECKER, E., HUBNER, L., HUNIG, T. and MULLER, G. : Properties and mode of action of T-cell replacing factor (TRF) ; Progress in Immunol. III. p. 397 ; proceedings of the third international congress of immun. Sydney, Australia (July 1977).
38. COHEN, S., DAVID, J., FELDMANN, M., GLADE, P., MAYER, M., OPPENHEIM, M., PAPERMEISTER, B.W., PICK, E., PIERCE, C.W., ROSENSTREICH, D.L., WAKSMAN, B.H. : Special feature. Current state of studies of mediators of cellular immunity : A progress report. Cellular Immunity 33 : 293 (1977).
39. TADA, T., TANIGUCHI, M. and OKUMURA, K. : Regulation of antibody response by antigene-specific T-cell factors bearing I region determinants ; Progress in Immun. III. p. 369 ; proceedings of the thrid international congress of immun. Sydney, Australia (July 1977).

40. TAKATSU, K. and ISHIZAKA, K. : Reaginic antibody formation in the mouse. IX. Enhancement of suppressor and halper cell activities of primed spleen cells. J. Immun. 118 : 151 (1977).
41. KISHIMOTO, T. and ISHAZAKA, K. : Regulation of antibody response in vitro. VIII. Multiplicity of soluble factors released from carrier specific cells. J. Immun. 112 : 1685 (1974).
42. STREJAN, G.H., RABHERU, K., WHITE, R. and DURLAN, D. : Reaginic antibody production to ascaris suum allergen, ASC-1. Influence of type of adjuvant and of carrier priming on the induction of IgE and IgG antibodies to Dinitrophenyl conjugates. Int. Archs Allergy appl. Immun. 54 : 502 (1977).
43. De WECK, A.L. : Penicillin allergy as a model for the study of immediate hypersensitivity in man and animals. In "Progress in Immunology III", North Holland publ., Amsterdam, 1977.
44. GIRARD, J.P. and CUEVAS, M. : Determination of lymphokines in clinical conditions. Allergy and Clin. Immun. 3 : 70 (1972).
45. KATZ, D.H., PAUL, W.E., GOIDL, E. and BENACERRAF, B. : Carrier function in anti-hapten immune response. I. Enhancement of primary and secondary anti-hapten antibody response by carrier preimmunisation. J. exp. Med. 132 : 261 (1970).
46. GOLUB, E.S. : Regulation of immune response. I. Accelerated response induced by suboptimal antigen concentration. Cell Immunol. 3 : 70 (1972).
47. LEE, W.Y., SEHON, A.H. : Suppression of reaginic antibody formation. I. Induction of hapten-specific tolerance. J. Immunol. 114 : 829 (1975).
48. NOSSAL, J.V., BEVERLEY, L.P., KATZ, D.H. : Induced of B cell tolerance in vitro to 2,4-Dinitrophenyl coupled to a copolymer of D-glutamic acid and D-lysine (DNP-D-GL). J. Exp. Med. 138 : 312 (1973).

49. OKUDAIRA, H. and ISHIZAKA, K. : Reaginic antibody formation in the mouse. III. Collaboration between hapten-specific memory cells and carrier-specific helper for secondary anti-hapten antibody formation. *J. Immunol.* 111 : 1420 (1973).
50. LEE, W.Y. and SEHON, A.H. : Suppression of reaginic antibody formation. III. Relationship between immunogenicity and tolerogenicity of hapten-carrier conjugates. *J. Immunol.* 116 : 1711 (1976).
51. HAMAOKA, T., NEWBURGER, P.E., KATZ, D.H. and BENACERRAF, B. : Hapten-specific IgE antibody responses in mice. III. Establishment of parameters for generation of helper T-cell function regulating the primary and secondary responses of IgE and IgG B-lymphocytes. *J. Immunol.* 113 : 958 (1974).
52. REVOLTELLA, R. and OVARY, Z. : Preferential production of rabbit reaginic antibodies. *Int. Archs Allergy* 36 : 282 (1969).
53. KISHIMOTO, T. and ISHIZAKA, K. : Regulation of antibody response in vitro. V. Effect of carrier-specific helper cells on generation of hapten-specific memory cells of different immunoglobulin classes. *J. Immunol.* 111 : 1 (1973).
54. CHIORAZZI, N., ESHHAR, Z. and KATZ, D.H. : Induction of immunological tolerance to the major antigenic determinant of penicillin : A therapeutic approach to penicillin allergy. *Proc. Nat l. Acad. Sci. USA* 73 : 2091 (1976).
55. ISHIZAKA, K. and KISHIMOTO, T. : Control mechanism in reagin-mediated hypersensitivity. Edited by L. Goodfriend Marcel Dekker, New York, 1973.
56. KATZ, D.H., HAMAOKA, T., NEWBURGER, P.E. and BENACERRAF, B. : Hapten-specific IgE antibody responses in mice. IV. Evidence for distinctive sensitivities of IgE and IgG B-lymphocytes to the regulatory influences of T-cells. *J. Immunol.* 113 : 974 (1974).

57. TADA, T., OKUMURA, K., OCHIAI, T. and IWASA, S. :
Effect of lymphocytosis-promoting factor of Bordetella pertussis in the immune response. II. Adjuvant effect for the production of reaginic antibody in the rat. Int. Archs allergy appl. immun. 43 : 207 (1972).
58. GOLAN, D.T. and BOREL, Y. : Non-antigenicity and immunologic tolerance : the role of the carrier in the induction of tolerance to hapten. J. exp. Med. 134 : 1046 (1971).
59. BOREL, Y., KILHAM, L., HYSLOP, N. and BOREL, H. :
Isologous IgG-induced tolerance to benzyl-penicilloyl. Nature 261 : 49 (1976).
60. HAVAS, H.F. : The effect of the carrier protein on the immune response and on the induction of tolerance in mice to the 2,4-Dinitrophenyl determinant. Immunology 17 : 819 (1969).
61. NAOR, D. and MISHELL, R. : In vitro immunity to TNP and penicillin : specific inhibition with hapten conjugated isologus red cells. J. Immunol. 108 : 246 (1972).
62. KATZ, D.H., HAMAOKA, T. and BENACERRAF, B. : Immunological tolerance in bone marrow derived lymphocytes. I. Evidence for an intracellular mechanism of inactivation of hapten-specific precursors of antibody forming cells. J. exp. Med. 136 : 1404 (1972).
63. GIRARD, J.P. et JEUNET, F. : Réactions allergiques aux pénicillines : Essais cliniques d'un inhibiteur hapténique monovalent (Ro-6-0787). Médecine et Maladies infectieuses 7 - 2b - 103 (1977).
64. De WECK, A.L. and SCHNEIDER, C.H. : Specific inhibition of allergic reactions to penicillin in man by a monovalent hapten. I. Experimental immunological and toxicologic studies. Int. Archs Allergy appl. immun. 42 : 782 (1972).
65. MOSSMANN, H., MEYER-DELIUS, M, VORTISCH, U., KICKHOFEN, B. and HAMMER, D.K. : Experimental studies on the bridging hypothesis of anaphylaxis. Hapten determinants required to elicit immediate-type reactions in calf skin by separate or concurrent sensitivation with reagents of different specificity. J. exp. Med. 140 : 1468 (1974).

66. LEE, W.Y. and SEHON, A.H. : Suppression of reagenic antibody formation. IV. Suppression of reagenic antibodies to penicillin in the mouse. J. Immunol. 117 : 927 (1976).
67. MOORHEAD, J.W., WALTERS, C.S. and CLAMAN, H.N. : Immunologic reactions to hapten on autologous carriers. I. Participation of both Thymus-derived and bone marrow-derived cells in the secondary in vitro response. J. exp. Med. 137 : 411 (1973).
68. ISHIZAKA, K. and OKUDAIRA, H. : Reagenic antibody formation in the mouse. I. Antibody-mediated suppression of reagenic antibody formation. J. Immunol. 109 : 84 (1972).
69. BOREL, Y., REINISCH, C.L. and SCHLOSSMANN, S.F. : T and B-cell in hapten-specific carrier-determined tolerance. J. exp. Med. 142 : 1254 (1975).
70. LEE, W.Y., SEHON, A.H. : Suppression of reagenic antibody formation. II. The use of adoptive transfert system for the study of immunological unresponsiveness. J. Immunol. 114 : 837 (1975).
71. ALDO-BENSON, M. and BOREL, Y. : Loss of carrier-determined tolerance in vitro loss of receptor blockade. J. Immunol. 116 : 223 (1976).
72. ALDO-BENSON, M. and BOREL, Y. : The tolerant cell : direct evidence for receptor blockade by tolerogen. J. Immunol. 111 : 1793 (1974).
73. SANFILIPPO, F. and SCOTT, D.W. : Carrier-specific unresponsiveness in reagenic antibody formation. I. Induction of helper cell tolerance in rats. Cell. Immunol. 28 : 427 (1977).
74. PAN, D.W., LEE, W.Y., SEHON, A.H. and BAZIN, H. : Specific suppression of reagenic antibodies in the rats. 60th. annual meeting of federation of the american society of experimental biologists, Anaheim, California (Abstr.) 1976.

75. LEE, W.Y. and SEHON, A.H. : Suppression of reaginic antibodies with modified allergens. I. Reduction in allergenicity of protein allergens by conjugation to polyethylene glycol. *Int. Archs Allergy appl. immun.* 56 : 159 (1978).
76. SANFILIPPO, F. and SCOTT, D. : Carrier-specific unresponsiveness in reaginic antibody formation. II. Suppression of hapten and carrier responsiveness in presensitized rats. *Cell. Immunol.* 28 : 435 (1977).
77. TANIGUCHI, M. and TADA, T. : Dual regulatory role of the thymus in the maturation of immune response in the rabbit. *J. exp. Med.* 139 : 108 (1973).
78. NEVEU, J.P. : Suppression of delayed hypersensitivity to the hapten by induction of tolerance to the carrier. *Int. Archs Allergy appl. immun.* 57 : 126 (1978).
79. LEE, W.Y., SEHON, A.H., KEPRON, W. and TSE, K.S. : Suppression of IgE response in mice and dogs. *European immunol. Meeting, Amsterdam, Sept. 1975.*
80. GANGULY, N.K., MOHAN, C., SAPRU, R.P. and KUMAR, M. : T and B-cell populations in the peripheral blood of rhesus monkeys. *Int. Archs Allergy appl. immun.* 53 : 290 (1977).
81. PARKER, C.W., de WECK, A.L., KERN, M. and EISEN, H.N. : The preparation and some properties of penicillenic acid derivatives relevant to penicillin hypersensitivity. *J. exp. Med.* 115 : 803 (1962).
82. GISLER, R.H. : Cellular regulation of immune responses. *INSERM*, 72 : 111 - 126 (sept. 1977).
83. OZEKI, S. and TEJIMA, K. : Drug Interactions. II. Binding of some pyrazolone and pyrazolidine derivatives to bovine serum albumine. *Chem. Pharm. Bull.* 22 (6) : 1297 - 1301 (1974).
84. CHIGNELL, C.F. : Optical studies of Drug-protein complexes. II. Interaction of phenylbutazone and its Analogues with human serum albumine. *Mol. Pharmacol.* 5 : 244 - 252 (1969).

85. DIENER, E. and LEE, K.C. : The role of macrophages and their soluble products in immune regulation. Progress in Immunol. III. p. 413. Proceedings of the third international congress of immunol. Sydney, Australia (July 1977).

